Russian Academy of Sciences
Russian Society of Plant Physiologits
Scientific Council on Plant Physiology and Photosynthesis, Russian Academy of Sciences
Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences
Timiryazev Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Sciences
Forest Research Institute, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences
Petrozavodsk State University

THE VIII CONGRESS OF THE RUSSIAN SOCIETY OF PLANT PHYSIOLOGISTS

PLANTS UNDER GLOBAL AND LOCAL NATURAL-CLIMATIC AND HUMAN IMPACTS

The All-Russian Conference with International Participation and School for Young Scientists (Petrozavodsk, September 21-26, 2015)

Book of Abstracts

Petrozavodsk
2015

Российская академия наук
Общество физиологов растений России
Научный совет по проблемам физиологии растений и фотосинтезу РАН
Институт биологии Карельского научного центра РАН
Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН
Институт леса Карельского научного центра РАН
Петрозаводский государственный университет

VIII СЪЕЗД ОБЩЕСТВА ФИЗИОЛОГОВ РАСТЕНИЙ РОССИИ

РАСТЕНИЯ В УСЛОВИЯХ ГЛОБАЛЬНЫХ И ЛОКАЛЬНЫХ ПРИРОДНО-КЛИМАТИЧЕСКИХ И АНТРОПОГЕННЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ

Всероссийская научная конференция с международным участием
и школа для молодых ученых
(Петрозаводск, 21-26 сентября 2015 г.)

Тезисы докладов

Петрозаводск
2015

УДК 581.1+581.5
ББК 28.57
Р24

Р24 **Растения в условиях глобальных и локальных природно-климатических и антропогенных воздействий**: Тезисы докладов Всероссийской научной конференции с международным участием и школы для молодых ученых (21-26 сентября 2015 г.). Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2015. 656 с.

ISBN 978-5-9274-0687-6

В сборнике представлены тезисы докладов Всероссийской научной конференции с международным участием и школы для молодых ученых «**Растения в условиях глобальных и локальных природно-климатических и антропогенных воздействий»,** посвященные современным проблемам физиологии растений. Большое внимание уделено механизмам регуляции физиологических процессов, геному растений и регуляции его экспрессии, клеточной биологии и биотехнологии, а также механизмам адаптации, устойчивости и выживания растений в условиях природно-климатических и антропогенных воздействий.

Для физиологов растений, биохимиков, биофизиков, молекулярных биологов, специалистов в различных областях экспериментальной ботаники и экологии.

УДК 581.1+581.5
ББК 28.57

Ответственный редактор чл.-корр. РАН А. Ф. Титов

Конференция и VIII Съезд ОФР проведены
при финансовой поддержке
Российского фонда фундаментальных исследований, проект № 15-04-20540

ISBN 978-5-9274-0687-6

© КарНЦ РАН, 2015
© ИБ КарНЦ РАН, 2015
© ИФР РАН, 2015
© ИЛ КарНЦ РАН, 2015
© ПетрГУ, 2015
© Коллектив авторов, 2015

ПРОГРАММНЫЙ КОМИТЕТ

Титов А.Ф. чл.-корр. РАН, проф.	Сопредседатель	(Петрозаводск)
Кузнецов Вл.В. чл.-корр. РАН, проф.	Сопредседатель	(Москва)
Немова Н.Н. чл.-корр. РАН, проф.	Сопредседатель	(Петрозаводск)
Зарипова Н.Р. к.б.н.	Ученый секретарь	(Москва)
Веселов А.П. д.б.н., проф.		(Нижний Новгород)
Ветчинникова Л.В. д.б.н.		(Петрозаводск)
Войников В.К. д.б.н., проф.		(Иркутск)
Воронин П.Ю. д.б.н.		(Москва)
Гамалей Ю.В. чл.-корр. РАН, проф.		(Санкт-Петербург)
Головко Т.К. д.б.н., проф.		(Сыктывкар)
Гончарова Э.А. д.б.н., проф.		(Санкт-Петербург)
Горшкова Т.А. д.б.н., проф.		(Казань)
Ермаков И.П. д.б.н., проф.		(Москва)
Жиров В.К. чл.-корр. РАН		(Апатиты)
Журавлев Ю.Н. акад. РАН, проф.		(Владивосток)
Казнина Н.М. к.б.н.		(Петрозаводск)
Киселева И.С. к.б.н.		(Екатеринбург)
Кузнецов В.В. д.б.н., проф.		(Москва)
Лукаткин А.С. д.б.н., проф.		(Саранск)
Марковская Е.Ф. д.б.н., проф.		(Петрозаводск)
Медведев С.С. д.б.н., проф.		(Санкт-Петербург)
Новицкая Л.Л. д.б.н.		(Петрозаводск)
Носов А.М. д.б.н., проф.		(Москва)
Романов Г.А. д.б.н., проф.		(Москва)
Саляев Р.К. чл.-корр. РАН, проф.		(Иркутск)
Соколов О.И. д.б.н.		(Саратов)
Таланова В.В. д.б.н.		(Петрозаводск)
Тараканов И.Г. д.б.н., проф.		(Москва)
Тарчевский И.А. акад. РАН, проф.		(Казань)
Тихомиров А.А. д.б.н., проф.		(Красноярск)
Холодова В.П. к.б.н.		(Москва)
Хрянин В.Н. д.б.н., проф.		(Пенза)
Цыдендамбаев В.Д. к.б.н.		(Москва)

ОРГАНИЗАЦИОННЫЙ КОМИТЕТ

Титов А.Ф. чл.-корр. РАН, проф. (КарНЦ РАН) Председатель
Казнина Н.М. к.б.н. (ИБ КарНЦ РАН) Ответственный секретарь
Батова Ю.В. к.б.н. (ИБ КарНЦ РАН)
Венжик Ю.В. к.б.н. (ИБ КарНЦ РАН)
Ветчинникова Л.В. д.б.н. (ИЛ КарНЦ РАН)
Галибина Н.А. к.б.н. (ИЛ КарНЦ РАН)
Икконен Е.Г. к.б.н. (ИБ КарНЦ РАН)
Лайдинен Г.Ф. к.б.н. (ИБ КарНЦ РАН)
Лаврова В.В. к.б.н. (ИБ КарНЦ РАН)
Марковская Е.Ф. д.б.н., проф. (ПетрГУ)
Николаева Н.Н. к.б.н. (ИЛ КарНЦ РАН)
Репкина Н.С. к.б.н. (ИБ КарНЦ РАН)
Таланова В.В. д.б.н. (ИБ КарНЦ РАН)
Теребова Е.Н. к.б.н. (ПетрГУ)
Топчиева Л.В. к.б.н. (ИБ КарНЦ РАН)
Холопцева Е.С. к.б.н. (ИБ КарНЦ РАН),
Шерудило Е.Г. к.б.н. (ИБ КарНЦ РАН)
Шибаева Т.Г. к.б.н. (ИБ КарНЦ РАН)

НАУЧНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ И КУРАТОРЫ

1. Фотосинтез, дыхание и продукционный процесс
д.б.н. Шугаев А.Г. (ИФР РАН, Москва), д.ф.-м.н. Креславский В.Д. (ИФПБ РАН, Пущино)

2. Онтогенез растений и его регуляция
д.б.н. Романов Г.А. (ИФР РАН, Москва), к.б.н. Азаркович М.И. (ИФР РАН, Москва)

3. Геном растений и регуляция его экспрессии
д.б.н. Кузнецов В.В. (ИФР РАН, Москва), к.б.н. Пожидаева Е.С. (ИФР РАН, Москва)

4. Водный статус и ионный гомеостаз
д.б.н. Балнокин Ю.В. (ИФР РАН, Москва), д.б.н. Трофимова М.А. (ИФР РАН, Москва)

5. Клеточная биология и биотехнологии
д.б.н. Носов А.М. (ИФР РАН, Москва), д.б.н. Долгих Ю.И. (ИФР РАН, Москва)

6. Физиологические и молекулярные механизмы стресса, адаптации и выживания растений
чл.-корр. РАН Кузнецов Вл.В. (ИФР РАН, Москва), к.б.н. Холодова В.П. (ИФР РАН, Москва), д.б.н. Воронин П.Ю. (ИФР РАН, Москва)

7. Биология трансгенных растений
д.б.н. Голденкова-Павлова И.В. (ИФР РАН, Москва), д.б.н. Романов Г.А. (ИФР РАН, Москва)

8. Молекулярные механизмы регуляции физиологических процессов
д.б.н. Лось Д.А. (ИФР РАН, Москва), д.б.н. Новикова Г.В. (ИФР РАН, Москва)

9. Преподавание физиологии и биохимии растений в вузах в 21-м веке
д.б.н. Рахманкулова З.Р. (ИФР РАН, Москва), д.б.н. Голденкова-Павлова И.В. (ИФР РАН, Москва)

Дорогие коллеги!

Приветствуем всех участников VIII Съезда Общества физиологов растений России, Всероссийской научной конференции и школы для молодых ученых «Растения в условиях глобальных и локальных природно-климатических и антропогенных воздействий», которые пройдут с 21 по 26 сентября 2015 г. в столице Республики Карелия г. Петрозаводске, основанном три столетия назад Петром Великим.

У нас есть прекрасная возможность приобщиться к сказочному карельскому краю, который славится неповторимой природой, национальными парками и заповедниками, уникальными культурно-историческими объектами, такими как Кижский архитектурный ансамбль, входящий в список памятников всемирного культурного наследия ЮНЕСКО и являющийся национальным достоянием России, а также острова Валаамского архипелага и Валаамский Спасо-Преображенский мужской монастырь.

Нет сомнения в том, что проведение съезда физиологов растений в Карелии, которая по праву считается жемчужиной российского Севера, будет способствовать успешной реализации насыщенной научной программы. В ее рамках нам предстоит рассмотреть целый спектр фундаментальных биологических проблем, которые направлены на выяснение механизмов регуляции и интеграции сложных физиологических процессов в растениях и которые являются теоретической базой для создания инновационных биотехнологий, получения высоких урожаев и решения острых экологических проблем.

Традиционно участникам съезда предстоит обсудить новейшие достижения в области фотосинтеза, дыхания и продукционного процесса, донорно-акцепторных отношений и интеграции функций, с которыми тесно связаны проблемы внутриклеточного и межорганного транспорта ассимилятов и минеральных элементов. В последние годы в мире достигнут значительный прогресс в изучении регуляции водного обмена и ионного гомеостаза растений, что также будет рассматриваться на заседаниях одной из секций.

Важное место в программе съезда предполагается уделить обсуждению новейших достижений в области регуляции экспрессии генома и трансдукции сигналов, вопросам роста и онтогенеза, рецепции гормонов и механизмам гормональной регуляции. О фундаментальной роли этих процессов свидетельствует тот факт, что по сути все проявления жизнедеятельности в любой биологической системе, в конечном счете, являются результатом дифференциальной экспрессии геномов. Именно по этой причине в научную программу съезда впервые введена специальная секция, посвященная рассмотрению молекулярных механизмов регуляции физиологических процессов, несмотря на то, что протекание молекулярных событий в растении будет являться предметом рассмотрения и на других секциях.

Целая серия докладов посвящена изучению жизни растительной клетки вне организма. Метаболизм изолированной клетки не подвержен влиянию сигналов межорганного уровня действия, что позволяет рассматривать, например, суспензионные клетки растений как искусственно созданную популяцию клеток, которая живет по своим особым законам. Познание биологии изолированной клетки открывает широкие возможности для разработки инновационных технологий получения ценного природного сырья для медицины, косметической, пищевой и фармацевтической промышленности, создания новых сортов растений с улучшенными свойствами, сохранения редких и исчезающих видов. Значительное внимание будет уделено рассмотрению биологии трансгенного растения. Технология рекомбинантных молекул ДНК открывает огромные возможности для решения многих важных проблем. Однако получение трансгенных организмов с целью их коммерческого использования предполагает наличие надежных доказательств их безопасности для человека и окружающей среды.

В последнюю четверть века наибольший интерес на конгрессах и съездах экспериментальных биологов растений, как правило, вызывают вопросы экологической физиологии

растений, что является результатом серьезных опасений мирового сообщества интенсивным техногенным загрязнением окружающей среды, неблагоприятными глобальными изменениями климата, таянием льдов Арктики, повышением уровня мирового океана, сокращением площади и толщины вечной мерзлоты, уничтожением лесов и лесных экосистем. По мнению Межправительственной комиссии ООН по вопросам изменений климата беспрецедентное повышение температуры воздуха на планете (с вероятностью 95%) вызвано деятельностью людей. Участники Съезда будут широко обсуждать жизнь растений в изменяющемся глобальном и региональном климате, адаптацию растений к условиям техногенного давления человека на природную среду, механизмы устойчивости растений к неблагоприятным температурам, водному дефициту, избыточному засолению, солям тяжелых металлов, а также взаимодействие растений с другими организмами.

Мы убеждены, что реализация научной Программы съезда продемонстрирует вклад физиологов растений в получение новых фундаментальных знаний, необходимых для решения многих глобальных общечеловеческих проблем, таких как проблема продовольственной безопасности, энергетической безопасности, нехватка пресной воды, предотвращение деградации и очистка загрязненных территорий, сохранение биоразнообразия и ряд других.

Президент Общества
физиологов растений России,
сопредседатель Оргкомитета
чл.-корр. РАН Вл.В. Кузнецов

Вице-президент Общества
физиологов растений России
сопредседатель Оргкомитета
чл.-корр. РАН А.Ф. Титов

ТЕЗИСЫ

ПЛЕНАРНЫХ ДОКЛАДОВ

КАРЕЛЬСКАЯ БЕРЕЗА: ПРОИСХОЖДЕНИЕ И МОРФО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ

Curly birch: origin and morpho-physiologic features

Ветчинникова Л.В.[1], Титов А.Ф.[2]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт леса Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия; vetchin@krc.karelia.ru*

[2] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия; titov@krc.karelia.ru*

Карельская береза (*Betula pendula* Roth var. *carelica* (Merclin) Hämet-Ahti) является уникальным представителем древесных растений Северной Европы, хотя лесов она не образует, а произрастает одиночно или небольшими группами преимущественно в хорошо освещенных местах. Уникальность и особая ценность карельской березы связана с особым строением ее древесины, волокна которой направлены не строго вертикально, а под разными углами, что приводит к образованию в ней извилистости, наличию «завитков» и появлению оригинальной цветовой гаммы. Визуально это проявляется в наличии утолщений или выпуклостей, как правило, хорошо различимых на поверхности ствола.

Появление карельской березы, имеющей фрагментированный (дизъюнктивный) ареал исключительно на территории стран Балтийского региона (Scholz, 1963; Václav, 1963; Ветчинникова и др. 2013 и др.), по-видимому, является результатом особого направления в эволюции берез, сложившегося в специфических условиях данного макрорегиона, который находится под влиянием, с одной стороны, теплого течения Гольфстрим, а с другой – холодных потоков воздуха со стороны Северного Ледовитого океана. Нестабильность природно-климатических условий, очевидно, способна повлечь в отдельные годы устранение существующей обычно фенологической изоляции произрастающих здесь видов березы (в настоящее время – это береза пушистая, береза повислая, береза карликовая; ранее – возможно, и другие виды, которых сегодня уже нет) и способствовать тем самым их гибридизации. Подтверждением этого служат результаты изучения степени генетической дифференциации различных видов березы, полученные с помощью современных молекулярно-генетических методов (Баранов и др., 2011; Ветчинникова и др., 2013), а также данные молекулярной паспортизации клонов карельской березы (Матвеева и др., 2008). Отметим также, что несмотря на трудности изучения кариотипа берез (из-за очень малого размера хромосом) установлено, что диплоидный набор у березы пушистой составляет 56 хромосом, а у березы повислой – 28. В отличие от этого, у карельской березы выявлен высокий уровень миксоплоидии – от 23 до 42 хромосом (Буторина, 1993; Исаков, 2000, Машкина и др., 2011).

По-видимому, следствием этих процессов является высокий полиморфизм и внутривидовое (внутрипопуляционное) разнообразие карельской березы по целому ряду анатомо-морфологических и морфофизиологических признаков, включая форму роста, тип поверхности ствола, насыщенность рисунка древесины и т.д. В частности, основными формами роста карельской березы являются высокоствольная, короткоствольная, кустообразная, но встречаются также растения кустарниковой и кустовидной форм роста. Среди основных типов поверхности ствола можно выделить (в соответствии с плотностью рисунка древесины) шаровидно-утолщенный, мелкобугорчатый и ребристый. Карельская береза с отсутствием узорчатой древесины, вероятно, в природе встречается, но отличить ее от обычной березы повислой практически невозможно. Хотя ее можно получить экспериментально, но только при контролируемом опылении.

Результаты исследований также показывают, что у карельской березы, в отличие от других видов березы, уже на ранних этапах развития наблюдается пониженная скорость апикального роста осевого побега (Ганюшкина, 1978) и довольно активное формирование боковых побегов. В отдельные годы площадь листовой пластинки карельской березы может вдвое превышать аналогичный показатель у березы повислой. У карельской березы в пасоке отмечено повышенное содержание цитокинина (Ahokas, 1985), глутаминовой кислоты (Эглите, Ошкая, 1973) и отсутствие сорбитола (Pätiälä et. al., 1978). По сравнению с березой повислой и березой пушистой у карельской березы выше доля суммарных липидов в лубе ствола (в 2 раза) и ниже в бересте (на 15-20%) (Ветчинникова, 2004). При этом содержание диеновых жирных кислот в липидах (в основном за счет линолевой) в бересте достоверно выше. Уровень содержания растворимых сахаров у карельской березы в тканях луба ветвей и ствола также выше, чем у березы повислой (Новицкая, 2008). Отмечена и более высокая активность пероксидаз у растений с узорчатой текстурой по сравнению с «безузорчатыми» (Галибина и др., 2011). Однако несмотря на указанные различия, анализ имеющихся данных позволяет утверждать, что карельская береза и «обычные» виды – береза повислая и береза пушистая – весьма близки друг к другу, а выявляемые между ними различия не столь существенны и носят преимущественно количественный характер, что свидетельствует об их филогенетической близости.

Из всего вышеизложенного следует, что происхождение карельской березы скорее всего связано с естественной гибридизацией близкородственных видов – березы повислой и березы пушистой. Поэтому она не только характеризуется значительным сходством с этими видами, но и зачастую занимает по многим морфофизиологическим показателям промежуточное положение между ними.

СВОЙСТВА И ОСОБЕННОСТИ ФУКЦИОНИРОВАНИЯ РЕЦЕПТОРОВ ЦИТОКИНИНОВ

Properties and functioning of cytokinin receptors

Ломин С.Н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; losn1@yandex.ru

Цитокинины – это классические гормоны растений, регулирующие множество физиологических функций. Прогресс в понимании молекулярного механизма их действия связан с секвенированием генома арабидопсиса, что позволило перейти на уровень исследования функции отдельных белков Установлено, что за передачу сигнала цитокинина в клетке отвечает двухкомпонентная система, состоящая из трансмембранных рецепторов – сенсорных гистидинкиназ, фосфотрансмиттеров и регуляторов ответа (факторов транскрипции). В нашей работе мы провели многостороннее исследование свойств рецепторов цитокининов. У арабидопсиса найдено три рецептора цитокинина, AHK2, AHK3 и AHK4. На данный момент расшифрованы геномы у нескольких десятков видов растений, и в базах существует информация о более чем 200 рецепторах цитокининов. Рецепторы имеются у всех исследованных наземных растений. Причем у покрытосеменных они подразделяются на три группы, ортологичные трем рецепторам арабидопсиса. В нашей работе мы исследовали лиганд-связывающие свойства рецепторов арабидопсиса, картофеля и кукурузы. Цитокинины представляют собой группу веществ. У всех растений присутствуют *транс*-зеатин, *цис*-зеатин, изопентениладенин и дигидрозеатин. Рецепторы по-разному связывают эти цитокинины. При этом по характеру связывания они подразделяются на три группы. Предпочтение *транс*-зеатину отдают ортологи AHK3, а ортологи AHK2 и AHK4 помимо этого хорошо связывают изопентениладенин. У злаков имеется особая подгруппа ортологов AHK4 (ZmHK1), которая связывает изопентениладенин гораздо лучше *транс*-зеатина, а *цис*- и *транс*-зеатины связываются с практически одинаковым сродством. Стоит отметить, что у злаков *цис*-зеатин присутствует в большом количестве. И, в отличии от арабидопсиса, судя по всему является активным цитокинином. Дигидрозеатин является минорным цитокинином. Он лучше связывается с ортологами AHK3. В экспериментах *in planta* по индукции экспрессии гена первичного ответа на цитокинины на двойных мутантах арабидопсиса по рецепторам также была показана различная чувствительность рецепторов к разным видам цитокининов. При этом AHK3 и AHK2 реагировали на *транс*-зеатин лучше, чем на изопентениладенин, а AHK4, наоборот, гораздо лучше отвечал на изопентениладенин, чем на *транс*-зеатин. Данная специфичность может быть обусловлена различной физиологической функцией рецепторов цитокининов. AHK2 и AHK3 экспрессируются преимущественно в побеге и активно реагируют на *транс*-зеатин, поступающий из корней. А AHK4 экспрессируется в основном в корне и реагирует на приходящий из побега изопентениладенин. Эту схему подтверждают данные литературы об определяющей роли *транс*-зеатина и транспорта цитокинина из корня для роста побега. Цитокинины транспортируется между органами по ксилеме и флоэме преимущественно в виде рибозидов, но рецепторы связывают с высоким сродством только основания. Расшифрована молекулярная структура гормон-связывающего модуля AHK4. Это дало возможность идентифицировать аминокислоты-детерминанты, обуславливающие лигандную специфичность рецепторов. Установлено, что лигандная специфичность детерминируется не одной, а комбинацией аминокислот. При этом далеко не все из них находятся в лиганд-связывающем кармане. У рецепторов pH-зависимость связывания цитокининов оказалась типичной для белков, локализованных внутри клетки, но не на плазмалемме: . связывание ослабевало при pH 5-6. Субклеточную локализацию этих белков исследовали несколькими методами. Оказалось, что максимум связывания цитокинина приходится на внутренние мембраны. Рецепторы, сшитые с GFP, при экспрессии в листьях табака и протопластах из листьев кукурузы локализуются в сети эндоплазматического ретикулума (ЭР). Для более точного определения локализации растительные мембраны были разделены в сахарозном градиенте в присутствии и отсутствие Mg^{2+}. Затем с мембранными фракциями был проведен иммуноблоттинг с антителами против рецепторов. Оказалось, что рецепторы ко-локализуются с маркером ЭР и для них также характерен Mg^{2+}/ЭДТА сдвиг в градиенте. Таким образом, рецепторы локализуются в ЭР, а не в плазмалемме, как считалось ранее. Установлено, что лиганд-связывающий модуль рецептора направлен в люмен ЭР, а киназный и ресиверный домены – в цитозоль, что дает возможность передавать сигнал в ядро. В экспериментах *in vivo и in vitro* показано, что локализованные в ЭР рецепторы являются функционально активными. Была выдвинута гипотеза, объясняющая значимость подобной локализации рецепторов. Рибозиды цитокининов, пришедшие из другого органа по ксилеме или флоэме, превращаются в активные основания внутри клеток растений. Здесь же они и рецептируются ЭР-рецепторами, что позволяет более тонко регулировать уровень цитокининов в органе, на который оказывается регулирующее воздействие.

Работа поддержана грантами РНФ № 14-14-01095 и РФФИ № 14-04-01714.

РЕГУЛЯЦИЯ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ФУНКЦИЙ У ЦИАНОБАКТЕРИЙ: УРОКИ ГЕНОМИКИ, ТРАНСКРИПТОМИКИ И ФОСФОПРОТЕОМИКИ

Regulation of physiological functions in cyanobacteria: lessons from genomics, transcriptomics, and phosphoproteomics

Лось Д.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; losda@ippras.ru

Цианобактерии – широко распространенная группа фотоавтотрофных организмов, которая вносит значительный вклад в фиксацию атмосферного углерода посредством фотосинтеза. Цианобактерии быстро растут, не занимают сельскохозяйственные угодья; они эффективно фиксируют избыточный CO_2, преобразуя его в биомассу. Древние цианобактерии участвовали в формировании нефтяных месторождений Земли. Биомассу современных цианобактерий можно превратить в био-нефть путем пиролиза. Многие виды цианобактерий можно трансформировать генетически, направляя фотосинтез на получение возобновляемых источников биотоплива – углеводов, жирных кислот, или спиртов. Цианобактерии также используются как модельные организмы для исследования процессов фотосинтеза, стрессовых ответов, различных регуляторных механизмов.

Информации о полных нуклеотидных последовательностях геномов цианобактерий предоставляет возможности для их масштабного изучения методами «обратной» генетики, транскриптомики, протеомики, метаболомики. Использование ДНК микрочипов для исследования полногеномной транскрипции и масс-спектрометрии для идентификации белков, липидов и клеточных метаболитов позволяют реконструировать целостную картину метаболических и регуляторных путей и их взаимодействий.

В сигнальные процессы цианобактерий вовлечены двухкомпонентные системы регуляции, состоящие из сенсорных гистидинкиназ и белков – регуляторов ответа, серин-треониновые протеинкиназы, соответствующие фосфатазы, транскрипционные факторы, сигма-факторы РНК. Кроме того, регуляция физиологических функций может осуществляться на метаболитном и/или ионном уровнях.

Одним из примеров такой регуляции является свето-темновая регуляция фотосинтеза, в которую вовлечены двухкомпонентные системы восприятия и передачи сигналов (в т.ч. и циркадных ритмов), сигма-факторы РНК-полимераз, ионная регуляция активности ферментов. Эта регуляция также предполагает взаимодействие циклов обмена углерода и азота на уровне переключения транскрипционных факторов, регулирующих крупные кластеры генов.

Результаты изучения экспрессии целых геномов цианобактерий (от инициации транскрипции до физиологической функции) во время стрессовых воздействий поднимают новые вопросы и ставят задачи, связанные с поиском и идентификацией универсальных механизмов запуска стрессовых ответов.

КАРЕЛЬСКАЯ БЕРЕЗА: МЕХАНИЗМЫ ОБРАЗОВАНИЯ УЗОРЧАТОЙ ДРЕВЕСИНЫ

Curly birch: the mechanisms behind the formation of figured wood

Новицкая Л.Л.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт леса Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия; novits@krc.karelia.ru

Еще в начале второй половины прошлого века исследования в тканевой культуре показали, что для дифференцировки проводящих элементов ксилемы и флоэмы необходимы сахароза и ауксин (Wetmore, Rier, 1963; Beslow, Rier, 1969; Jeffs, Northcote, 1967; Warren Wilson, 1978; Aloni, 1980 и др.). Warren Wilson (1978) предложил модель, согласно которой камбиальный рост растений определяется сочетанием двух этих веществ-морфогенов, имеющих противоположно направленный радиальный градиент. Показано, что ауксин стимулирует дифференцировку проводящих элементов ксилемы, полярный ток гормона определяет их вытянутую форму и вертикально-тяжевую ориентацию (Gersani, Sachs, 1984; Aloni, 1987; Sachs, 1991; Kurczynska, Hejnowicz, 1991; Sieburth, Deyholos, 2006). Важной структурной особенностью проводящих тканей карельской березы (КБ) (*Betula pendula* Roth var. *carelica*) являются обильные включения клеток паренхимы. В данном случае происходит изменение программы дифференцировки производных камбия: вместо сосудов и волокнистых трахеид ксилемы и ситовидных трубок флоэмы образуются клетки запасающей паренхимы. Имеющиеся проводящие элементы в обеих тканях характеризуются укороченными размерами, их ориентация нарушена. Годичные кольца древесины образуют глубокие прогибы в сторону сердцевины. Данные ультраструктурного и биохимического анализов указывают на высокий уровень (избыток) сахарозы в проводящих тканях и камбиальной зоне КБ (Новицкая, 2008; Галибина и др., 2015 а,б).

Все сосудистые растения обладают способностью синтезировать коньюгат ИУК с глюкозой (ИУК-глюкоза, ИУК-Гл), образование которого происходит при взаимодействии ИУК и УДФ-глюкозы (УДФГ) с участием УДФГ-трансферазы (обзоры Sztein et al., 1995; Ludwig-Muller, 2011). Основной вклад в синтез УДФГ в растениях осуществляют два фермента - сахарозосинтаза (СС) и УДФГ-пирофосфорилаза, которые катализируют обратимые реакции: (1) СС: сахароза + УДФ УДФГ + фруктоза; (2) УДФГ-пирофосфорилаза: Гл-1-Ф + УТФ УДФГ + $ФФ_{н}$. (обзор Kleczkowski et al., 2010).

У КБ активность СС в ксилеме ниже в 2.6 раза, по сравнению с обычной березой повислой (ОБ) (*B. pendula* var. *pendula*) (Галибина и др., 2015 а). Расщепление сахарозы в тканях КБ происходит в основном путем ее гидролиза с помощью инвертазы (Инв). Суммарная активность форм Инв (цитоплазматическая - ЦитИнв, вакуолярная - ВакИнв, апопластная - АпИнв) во флоэме КБ выше в 2,5 раза, а в ксилеме в 3,8 раза, чем у ОБ (Галибина и др., 2015 б). В инвертазной реакции образуются глюкоза и фруктоза, которые в клетках легко превращаются в Гл-1-Ф (Курсанов, 1976). Недавно на мутантных растениях арабидопсиса было показано, что ЦитИнв может обеспечивать количество УДФГ, необходимое для нормального роста и развития растения (Barratt et al., 2009). Из этого следует, что образовавшиеся гексозы превращаются в Гл-1-Ф, который взаимодействует с УДФГ-пирофосфорилазой клетки. Этот фермент обнаружен во всех тканях растений, особенно в sink-тканях, для него характерна очень высокая активность (обзоры Kleczkowski et al., 2010, 2011).

В проводящих тканях КБ особенно активна АпИнв: во флоэме она в 2,5 раза, а в ксилеме в 5 раз выше, чем у ОБ (Галибина и др., 2015б). Можно ожидать, что в цитозоле клеток ствола КБ идет интенсивный синтез УДФГ, в котором участвуют гексозы, образовавшиеся в ходе апопластного расщепления сахарозы. Активности УДФГ-пирофосфорилазы, а также УДФГ-трансферазы, катализирующей коньюгацию ИУК с глюкозой, сосредоточены в цитозоле (обзоры Ludwig-Muller, 2011; Kleczkowski et al., 2011). Таким образом, в цитозоле формирующихся клеток ксилемы и флоэмы КБ имеются предпосылки для появления большого количества УДФГ, что может способствовать инактивации ИУК в результате образования ИУК-глюкозы.

Изложенный механизм инактивации ИУК в тканях КБ был проверен в экспериментах с введением в камбиальную зону березы экзогенных растворов ИУК и сахарозы. Введение в ткани ствола растворов ауксина разной концентрации позволило выявить его летальную дозу (0,04%), при которой происходит отмирание тканей. Совместное введение летальной дозы ауксина с возрастающими концентрациями сахарозы продемонстрировало, что при высоком уровне дисахарида (10%) ткани остаются живыми, более того, в данном случае сохраняется камбиальная активность. Установлено, что утилизация экзогенной сахарозы происходит при высокой активности АпИнв, следствием чего становится поступление в клетку большого количества гексоз. Таким образом, высокий уровень сахарозы через образование гексоз способствует инактивации ауксина. По нашему мнению, развитие структурных аномалий у карельской березы связано с переходом ИУК в неактивную форму через образование коньюгата с глюкозой на фоне активного расщепления сахарозы с помощью АпИнв.

ОСОБЕННОСТИ ОБРАЗОВАНИЯ ИЗОПРЕНОИДОВ В КУЛЬТУРАХ КЛЕТОК ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Peculiarities of Isoprenoids Production in Plant Cell Cultures

Носов А.М.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; al_nosov@mail.ru

Вторичный метаболизм растительной клетки является уникальным процессом, принципиально отличающим растительную клетку от животной. В то же время роль вторичных метаболитов в жизнедеятельности растения до сих пор является предметом дискуссий. Наиболее вероятной представляется гипотеза об экологической значимости этих соединений, следовательно, их функциональной роли только на уровне интактного растения, но не на уровне клетки. В этом случае вторичный метаболизм в клетках *in vivo* и *in vitro* должен иметь определенные различия.

Изопреноиды являются наиболее многочисленным классом вторичных метаболитов, насчитывающим более 30 000 соединений. На основе данных литературы и полученных экспериментальных результатов проведен анализ особенностей образования изопреноидов в культурах клеток диоскореи дельтовидной (*Dioscorea deltoidea)*, разных видов женьшеня (*Panax ginseng, P. japonicus*), полисциаса (*Polyscias filicifolia, P. fruticosa*), стевии (*Stevia rebaudiana*), тиса (*Taxus baccata. T.media*) в сравнении с интактными растениями. Показано, что практически во всех случаях наблюдаются существенные изменения в составе и количестве синтезируемых клетками *in vitro* вторичных метаболитов. В частности, для культуры клеток диоскореи дельтовидной отмечена практически полная потеря способности синтезировать спиростаноловые гликозиды, тогда как содержание фуростаноловых гликозидов в 5–6 раз превышает их содержание в интактном растении, при этом в клетках *in vitro* появляются не характерные для интактного растепния S-изомеры протодиосцина и дельтозида. Для культур клеток женьшеня установлены значительные изменения в соотношении гинзенозидов Rb и Rg – групп по сравнению с корнем интактного растения. При этом в клетках *in vitro* основная часть гинзенозидов Rb-группы находится в виде малонильных эфиров, что вероятно связано с необходимостью их транспорта в вакуоли. Для культур клеток стевии характерна практически полая потеря способности к образованию ставиол-гликозидов, однако их синтез интенсифицируется в миксотрофных либо в морфогенных культурах.

Обсуждаются возможные причины наблюдаемых изменений образования изопреноидов в клетках *in vitro,* прежде всего связанные со спецификой культур клеток высших растений как специфичной биологической системой. В отличие от клеток интактного растения, вторичные метаболиты в культурах клеток должны образовываться в пролиферирующих клетках, при этом возможности временной и пространственной компартментации интермедиатов синтеза, что характерно для вторичного метаболизма интактного растения, в клектах *in vitro* практически отсутствуют.

Сопоставление особенностей вторичного метаболизма в клетках растений *in vivo* и *in vitro* дает дополнительные возможности корректного доказательства физиологических функций вторичных метаболитов в растении.

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ

ПАРАДОКС: ФОТОСИНТЕЗ ХЛОПЧАТНИКА ЗА СТО ЛЕТ СЕЛЕКЦИИ НОВЫХ СОРТОВ КАК КОНСЕРВАТИВНЫЙ ПРИЗНАК СУЩЕСТВЕННО НЕ ИЗМЕНИЛСЯ

Paradox: photosynthesis of cotton during the hundred years of selection of new sorts as conservative traits is not altered

Абдуллаев Х.А., Гиясидинов Б.Б., Солиева Б.А., Миракилов Х.М.

Институт ботаники, физиологии и генетики растений Академии наук Республики Таджикистан, Душанбе, Таджикистан; bako.76@mail.ru

Фотосинтез как основной компонент продукционного процесса играет определяющую роль в формировании и накоплении урожая – около 95% биологического и хозяйственного урожая растений составляют органические вещества, созданные в результате фотосинтеза. Исходя из этого, логичным представляется заключение, что чем выше интенсивность фотосинтеза, тем более высокой должна быть продуктивность растений. Однако, как это не покажется парадоксальным, в ряде работ установлено либо отсутствие прямой связи между интенсивностью фотосинтеза и урожаем, либо даже отрицательная корреляция между этими показателями у многих растений (пшеница, ячмень, соя, люцерна, ежа сборная, тимофеевка, овсяница высокая). В этой связи представлял интерес изучение взаимосвязи фотосинтеза и урожайности у хлопчатника в процессе столетней селекции новых сортов этой культуры. Сравнительный анализ интенсивности фотосинтеза стародавних и современных сортов тонковолокнистого хлопчатника, выведенных на селекционных станциях разных стран, разными методами селекции, в разные годы, показал, что как по величине максимальной интенсивности фотосинтеза в течение дня (дневная динамика), так и в разные фазы развития растений (сезонная динамика), между стародавними низкоурожайными и современными высокопродуктивными сортами тонковолокнистого хлопчатника статистически достоверных различий при уровне значимости $P=0.01$ не было обнаружено. Эти данные свидетельствуют о том, что в процессе многолетней селекции сортов хлопчатника интенсивность фотосинтеза как консервативный признак существенно не изменился, то есть практическая селекция не затронула непосредственно сам фотосинтетический аппарат хлопчатника.

Анализ энзиматической активности мультиферментного комплекса цикла Кальвина-Бенсона в листьях различных сортов тонковолокнистого хлопчатника показал, что стародавние и современные сорта не отличались друг от друга по уровню карбоксилазной активности фермента РБФКО при различных способах расчета (на белок, массу листа и площадь листа) в течение дня и в разные фазы развития растений, и между ними статистически достоверных различий не было обнаружено. Эти данные также свидетельствуют о том, что в течение вековой селекции новых сортов тонковолокнистого хлопчатника уровень активности ключевого фермента фотосинтеза – РБФКО существенно не изменился.

Возникает вопрос, тогда что обусловило повышение урожайности и улучшение качества хлопкового волокна у современных высокопродуктивных сортов тонковолокнистого хлопчатника, если они не отличаются по уровню интенсивности фотосинтеза и активности фермента РБФКО от стародавних (даже столетней давности) низкоурожайных сортов? Может быть это связано с распределением ассимилятов?

Изучение распределения ассимилятов между органами хлопчатника показало, что у сортов более поздней селекции относительно большое количество ассимилятов направлялся не на рост вегетативных органов, а на формирование плодовых органов (хлопкового волокна и семян). Это означает, что селекционеры при создании новых высокопродуктивных сортов направляли свои усилия на изменение габитуса куста хлопчатника, типа ветвления, формы листовой пластинки, соотношения массы вегетативных и репродуктивных органов, т.е. создавали такую морфобиологическую структуру растений, которая по существу, оптимизировала процессы донорно-акцепторных отношений, направленность транспорта ассимилятов, улучшая условия для формирования плодовых органов и высокого урожая.

На основе полученных результатов можно заключить, что повышение урожайности хлопчатника в течение столетней селекции - при выведении новых высокопродуктивных сортов с высокими адаптационными потенциалами устойчивости к болезням, вредителям и экстремальным факторам внешней среды было достигнуто благодаря изменению направленности распределения ассимилятов в пределах куста хлопчатника в пользу плодовых органов, а не в результате повышения уровня интенсивности фотосинтеза и активности фермента РБФКО. Однако следует отметить, что это утверждение ни в коей мере не дискредитирует главенствующую роль фотосинтеза в продукционном процессе как единственного у растений процесса трансформации энергии солнечной радиации в энергию химических связей и первичного синтеза углеводов. Результаты наших исследований убеждают в том, что в селекционной работе важнейшее значение должны иметь анализ регуляции фотосинтеза и механизмов донорно-акцепторных отношений у растений. Наряду с этим следует ожидать, что в будущем получат развитие исследования, направленные на поиски путей изменения (трансформации) фотосинтетического аппарата с использованием методов современной генной инженерии и биотехнологии с целью повышения продуктивности растений.

РОЛЬ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ В СИСТЕМЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ У ОГУРЦА ПРИ КОМПЛЕКСНОМ ДЕЙСТВИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

The role of salicylic acid in the antioxidant defense system of cucumber at complex action of heavy metals

Абилова Г.А., Джанмирзаева М.М.

Дагестанский государственный университет, Махачкала, Республика Дагестан, Россия
gulyaraabilova@mail.ru

В настоящее время имеются данные о том, что тяжелые металлы (ТМ), поступая в растения, вызывают многочисленные изменения и нарушения. При этом степень ингибирования биохимических и физиологических реакций зависит не только от токсичности металлов, их концентрации, но и от особенностей их взаимодействия. Устойчивость растений к любому стрессору определяется соотношением уровня перекисного окисления липидов (ПОЛ) и активности антиоксидантной (АО) системы.

В связи с этим целью настоящего исследования было изучение влияния комплекса солей меди и цинка на содержание пролина и интенсивность ПОЛ в семядольных листьях огурца сорта «Феникс», а также действия на эти показатели салициловой кислоты (СК), обладающей антиоксидантными свойствами и нейтрализующей активные формы кислорода (АФК). В качестве объекта исследования использовали 9-дневные растения огурца (*Cucumis sativus* L.) сорта «Феникс». Семена подвергали предпосевной обработке СК (0,1мМ) в течение 4-х часов. Для моделирования стрессового воздействия ТМ семена проращивали при поливе комплексом солей низкой (0,25 мкМ $CuSO_4$, 1 мкМ $ZnSO_4$) и высокой (50 мкМ $CuSO_4$, 1000 мкМ $ZnSO_4$) концентрации. Контролем служили растения, выращенные на дистиллированной воде. На 9 сутки определяли сырую биомассу и длину надземной части (гипокотили и семядольные листья) и корней проростков огурца. Содержание пролина определяли в семядольных листьях и корнях, продуктов ПОЛ – только в семядольных листьях проростках огурца.

Установлено, что при низких концентрациях солей Cu и Zn наблюдалось усиление интенсивности роста и накопления биомассы как надземной, так и подземной части проростков. Высокие концентрации солей ТМ оказывали ингибирующее действие на рост, которое в большей степени проявлялось на корневой системе. Предпосевная обработка СК способствовала увеличению размеров и биомассы проростков как в контроле, так и при низких концентрациях солей. В опыте с высокими концентрациями Cu и Zn предобработка СК, наоборот, усиливала негативное влияние ТМ.

ТМ вызывают в растениях образование АФК, которое, в свою очередь, активирует ПОЛ. О прооксидантном состоянии растений можно судить по накоплению продукта ПОЛ – малонового диальдегида (МДА). При низких концентрациях солей содержание МДА в семядольных листьях проростков увеличивалось, но незначительно и не достигало достоверного уровня по сравнению с контролем, при высоких концентрациях солей содержание МДА возрастало в 1,5 раза. Обработка семян огурца СК не влияла на интенсивность ПОЛ в семядольных листьях проростков, выращенных на воде, но существенно снижала содержание МДА на фоне эссенциальных ионов Cu^{2+} и Zn^{2+}. В присутствии сублетальных концентраций ТМ СК способствовала еще большему возрастанию интенсивности ПОЛ, по сравнению с тем, что как это происходило в присутствии только ТМ.

В поддержании редокс-гомеостаза клеток при накоплении АФК у растений определенную роль играет пролин. Семядольные листья и корни в проростках огурца по-разному реагировали на предпосевную обработку семян СК. Если в корнях содержание пролина практически не изменилось, то в семядольных листьях увеличение содержания пролина было достоверно выше. Присутствие в среде культивирования ТМ в низкой концентрации вызывало увеличение содержания пролина в корнях и семядольных листьях в 1,1 раза по сравнению с контролем, но ни в корнях, ни в семядольных листьях оно не достигало достоверных величин. Высокие концентрации этих же солей вызывали интенсивное накопление пролина в корнях и семядольных листьях в 2,0 и в 1,5 раза соответственно по сравнению с контролем.

Полученные результаты позволяют сделать заключение, что в сублетальных дозах комплекс ТМ индуцировал процессы свободнорадикального окисления в клетках растений огурца. СК способствовала усилению тяжести окислительного стресса, в большей степени выраженное в корневой системе.

ЗАЩИТНЫЙ ЭФФЕКТ 24-ЭПИБРАССИНОЛИДА НА ПРОТЕОМ И ФОСФОПРОТЕОМ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ ПРИ ОБЕЗВОЖИВАНИИ

Protective effect of 24-epibrassinolide on proteome and phosphoproteome of wheat seedlings under dehydration

Авальбаев А.М.[1], **Юлдашев Р.А.**[1], **Федорова К.А.**[1], **Федина Е.О.**[2], **Петрова Н.В.**[2], **Гильманова Р.И.**[2], **Каримова Ф.Г.**[2], **Шакирова Ф.М.**[1]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа, Республика Башкортостан, Россия*
avalbaev@yahoo.com

[2] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук, Казань, Республика Татарстан, Россия*
karimova@kibb.knc.ru

Выявленный нами ранее ярко выраженный защитный эффект 24-эпибрассинолида (ЭБ) к условиям обезвоживания на растения пшеницы свидетельствует об активном влиянии этого фитогормона на метаболизм клеток, центральным звеном которого является синтез белка. Однако, знания о спектре белков, вовлеченных в реализацию физиологического действия ЭБ в растениях, пока ограничены. В связи с этим, встала задача комплексного анализа вызываемых ЭБ перестроек в протеоме пшеницы при солевом стрессе, и последующей идентификации вовлеченных в реализацию защитного действия ЭБ белков. Выявлено, что воздействие натрий-хлоридного засоления в течение 24 ч, существенно тормозящего рост проростков, приводит к значительным количественным и качественным изменениям белкового профиля растений пшеницы. Методами 2D-электрофореза и матричной лазерной десорбционно-ионизационной масс-спектрометрии (MALDI-TOF MS) у подверженных засолению проростков выявлено уменьшение уровня большинства белков, в частности, участвующих в фотосинтезе (малая и большая субъединицы рибулозобисфосфат карбоксилазы (РБФК), хлоропластная фруктозо-бисфосфат альдолаза, β-субъединица хлоропластного РБФК-связывающего белка, предшественник полипептида, входящего в состав кислород-высвобождающего комплекса фотосистемы II, хлоропластный 2-цис-пероксиредоксин), в регуляции роста и развития растений (глутамин синтетаза, актин, α- и β-субъединицы тубулина), а также исчезновение ряда белков. Кроме того, наблюдается существенное уменьшение количества фосфотирозиновых белков и падение уровня интенсивности тирозинового фосфорилирования побегов проростков, что указывает на драматичное нарушение клеточной сигнализации в них, с чем может быть связано резкое торможение роста проростков при стрессе. Предобработка растений ЭБ способствует адаптации протеома и фосфопротеома проростков к последующему воздействию стресса и снижению уровня негативного действия засоления на рост, что происходит на фоне предотвращения под влиянием гормона стресс-индуцированного уменьшения содержания белков (в том числе идентифицированных белков фотосинтеза, роста и развития растений), уровня тирозинового фосфорилирования и количества фосфотирозиновых полипептидов, что в последующем отражается в ускорении восстановления роста ЭБ-предобработанных растений в пост-стрессовый период. В то же время, выявленное в ответ на саму обработку ЭБ накопление белков, таких как аскорбатпероксидаза, глутатион-S-трансфераза, белок теплового шока эндоплазмин, свидетельствует об их вовлечении в спектр предадаптирующего и защитного действия гормона. Интересно, что в условиях стресса предобработанные ЭБ растения характеризуются заметно меньшим уровнем накопления этих защитных белков в сравнении с необработанными гормонами. Полученные результаты демонстрируют проявление защитного эффекта 24-эпибрассинолида на протеом и фосфопротеом пшеницы в условиях засоления.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 14-04-00731_а).

РЕГУЛЯЦИЯ ЭНЕРГОПРЕОБРАЗУЮЩИХ ПРОЦЕССОВ В ХЛОРОПЛАСТАХ КРАСНЫМ И СИНИМ УЗКОПОЛОСНЫМ СВЕТОМ

Regulation of energy-transforming processes in chloroplasts by red and blue narrow-band light

Аверчева О.В., Бассарская Е.М., Горшкова Д.С., Кочетова Г.В., Жигалова Т.В.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия
olga.avercheva@gmail.com

Светодиодные светильники, испускающие свет узкой спектральной полосы, рассматриваются как перспективные источники освещения при выращивании растений в интенсивной светокультуре. Однако спектральный состав света оказывает существенное и неоднозначное влияние на жизнедеятельность растений, в связи с чем необходимы исследования, обосновывающие выбор оптимальных источников освещения растений.

Физиологическое действие узкополосного света разного спектрального состава на растения различно. В частности, наблюдается различие в функционировании энергопреобразующих систем хлоропластов, однако конкретные механизмы действия узкополосного света на эти процессы слабо изучены. В связи с этим была выполнена работа, целью которой являлось изучение влияния узкополосного красного и синего света на организацию и функционирование АТФ-синтазного комплекса как одного из компонентов энергопреобразующей системы хлоропластов. Работа выполнена на 9-дневных проростках ячменя (*Hordeum vulgare* L.). Растения выращивали при фотопериоде 16/8 часов и освещении узкополосным красным (660 нм) и синим (450 нм) светом. Контролем служили растения, выращенные под люминесцентными лампами. Интенсивность освещения составляла 70 мкмоль квантов/($м^2$·с).

Показано, что фосфорилирующая активность изолированных хлоропластов растений, выращенных на синем свету, достоверно выше контроля, в то время как хлоропласты растений, выращенных на красном свету, проявляют сниженную активность фотофосфорилирования. Анализ процессов энергизации мембран, связанных с образованием электрохимического потенциала на мембранах тилакоидов *in vivo*, показал, что величина трансмембранного электрического потенциала (Dj) достоверно выше для растений, выращенных на красном свету, в то время как различий в величине трансмембранного концентрационного градиента протонов (DpH) не было выявлено. Возможно, в хлоропластах растений, выращенных на красном свету, изменены механизмы, отвечающие за поддержание электрической составляющей протонного градиента, что может сказываться на работе АТФ-синтазного комплекса.

При определении функциональной активности изолированных из хлоропластов сопрягающих белков (CF_1) наибольшую Ca^{2+}-зависимую АТФ-азную активность проявляли CF_1 из растений, выращенных на синем свету, а наименьшую – растений, выращенных на красном.

Исследование субъединичного состава изолированных CF_1 в 10% ПААГ с ДДС-Na выявило в области гамма-субъединицы две различные по электрофоретической подвижности белковые зоны у всех исследуемых вариантов. Однако соотношение интенсивности окраски на белок в обнаруженных зонах зависело от спектрального состава света, что может указывать на гетерогенность комплексов CF_1 у растений исследованных вариантов.

Таким образом, возможными причинами выявленных нами различий в фосфорилирующей активности хлоропластов у растений, выращенных в условиях различного спектрального состава света, могут быть изменения под действием узкополосного света структуры и функциональной активности сопрягающих белков, а также процессов энергизации мембран хлоропластов.

СИНТЕЗ ПЕРВИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ В КАЛЛУСАХ ИЗОГЕННЫХ ЛИНИЙ СОИ (*GLYCINE MAX (L.)* MERR.) С РАЗЛИЧНОЙ ФОТОПЕРИОДИЧЕСКОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬЮ

Synthesis of primary metabolites in the callus of isogenic soybean lines (*Glycine max* (L.) Merr) with different photoperiodic sensitivity

Авксентьева О.А., Васильченко М.С.

Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, Харьков, Украина; Avksentyeva@rambler.ru

Соя (*Glycine max* (L.) Merril) - это культурное растение из семейства бобовых, широко распространена в мире из-за высокой пищевой и технологической ценности ее семян. Семена сои содержат белки, масла, углеводы, клетчатку, витамины и минералы, и их качество улучшается с каждым годом благодаря исследованию генетических признаков и применению методов генной инженерии. Соя также является модельным растением для изучения фотопериодических эффектов, она представляет собой типичное короткодневное растение, у которого периоды времени от всходов до цветения и от цветения до созревания являются важными количественными признаками, опосредованно связанными с продуктивностью. К настоящему времени у сои культурной выявлено 9 основных генов системы *EE* (early maturity), контролирующих время до цветения и созревания. Это – ряд генов от *E1* до *E8* и *J*, при этом доминантные аллели по всем локусам, кроме *E6* и *J*, задерживают переход к цветению в различной степени, взаимодействуя с другими локусами генотипа и различными факторами окружающей среды. Влияние этих генов на рост и развитие продолжает активно исследоваться и в настоящее время, так как получение знаний в этой области необходимо для дальнейшего улучшения сортов сои. Содержание легкорастворимых белков, представленных в основном ферментами, и растворимых углеводов может быть маркером синтетической активности в тканях растения, в том числе и каллусных. Известно, что интенсивность биохимических процессов *in vivo* зависит от фотопериодической реакции изолиний сои. В то же время, аналогичных исследований в культуре *in vitro*, которая широко используется в настоящее время для решения фундаментальных и практических вопросов физиологии растений, не проводилось.

В данной работе мы исследовали эффекты генов *EE* на содержание легкорастворимых белков и растворимых углеводов в каллусных культурах изолиний сои с различной фотопериодической реакцией. Объектами исследования были каллусные культуры восьми почти изогенных линий (NILs) сои, созданных в генофоне сорта Clark, которые имеют одинаковый генотип и отличаются только по состоянию локусов *E*-генов (доминантный / рецессивный), детерминирующих короткодневную или нейтральную фотопериодическую чувствительность. Для получения каллусной культуры использовали семядольные экспланты асептических проростков, культивирование осуществляли на питательной среде Мурасиге-Скуга с добавлением стимуляторов роста – 2 мг/л 2,4-Д и 0,5 мг/л кинетина в термостате при температуре 26°С.

Результаты исследований показали, что все генотипы вводятся в культуру *in vitro* достаточно эффективно и формируют первичные каллусные ткани, которые по морфоцитологическим характеристикам не зависят от генотипа исходной линии. Первичные каллусы всех исследуемых линий представлены достаточно оводненными, неструктурированными, прозрачными, чуть желтоватыми, типичными каллусными массами, характеризующиеся интенсивным ростом. Однако по показателям синтеза первичных метаболитов, а именно по содержанию легкорастворимых белков и редуцирующих углеводов, а также ростового индекса (РИ) установлены достоверные различия между изолиниями с контрастной фотопериодической реакцией. Так, у короткодневных изолиний, в целом, выявлено большее содержание и белков, и углеводов, по сравнению с фотопериодически нейтральными изолиниями. Также эти изолинии характеризовались более высокими показателями роста в культуре *in vitro* - скоростью роста, приростом и ростовым индексом (РИ). Максимальное содержание белка, как правило, коррелирует с максимальным содержанием редуцирующих сахаров в каллусах и, наоборот – при минимальном количестве легкорастворимых белков также установлено минимальное количество углеводов. Наибольшей синтетической активностью характеризовалась изолиния L 65-3366 с генотипом *E1E2E3E4e5E7* с сильной короткодневной реакцией. В целом, содержание легкорастворимых белков в первичных каллусах почти вдвое превышало содержание редуцирующих сахаров, поскольку при культивировании на искусственной питательной среде питание растительных тканей происходит гетеротрофно.

Таким образом, в ходе проведенных исследований установлена связь между фотопериодической реакцией (короткодневной или фотопериодически нейтральной) в условиях *in vivo*, обусловленной генотипом исследуемых изолиний сои *Glycine max* (L.) Merril и особенностями роста и синтетической активности каллусов в культуре *in vitro*.

ИЗУЧЕНИЕ АЛЛЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ЛОКУСОВ ГЕНОВ *VRN* ПШЕНИЦЫ МЯГКОЙ В ТЕЧЕНИЕ ЯРОВИЗАЦИИ И В СВЯЗИ С ТЕМПАМИ РАЗВИТИЯ

The study of VRN genes loci in allelic variants of soft wheat during vernalization and in connection with the rate of development

Авксентьева О.А., Шулик В.В.

Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, Харьков, Украина; Avksentyeva@rambler.ru

Одним из важнейших биологических признаков, который определяет хозяйственную ценность зерновых культур, в том числе пшеницы мягкой *Triticum aestivum* L., и их возможность культивирования в той или иной климатической зоне является продолжительность вегетационного периода. Известно, что продолжительность онтогенеза, тип (яровой/озимый) и скорость развития у пшеницы мягкой *Triticum aestivum* L. детерминируются несколькими системами генов: системой генов *VRN*, которая контролирует потребность в яровизации и определяет тип развития растений (яровой или озимый); системой генов *PPD*, которая определяет чувствительность или нечувствительность к фотопериоду; системой генов *VRD*, которая определяет продолжительность яровизационного периода и комплексом генов *EPS-earliness per se* (скороспелость как таковая). Роль этих генетических систем в контроле перехода растений пшеницы от вегетативного к генеративному развитию неодинакова. Большинство исследователей считает, что главной среди данных систем является система генов *VRN* (три-пять локусов), которая влияет на сроки периода всходы-колошение (ПВК) и, соответственно, на общую продолжительность вегетационного периода.

Целью данной работы было проведение молекулярно-биологического анализа аллельного состояния генов системы *VRN* у изогенных по этим генам линий двух сортов мягкой пшеницы, выявление их роли в детерминации темпов развития растений, а также изучение аллельных вариантов локусов генов в течение яровизационного воздействия. Молекулярный анализ генов *Vrn -A1, Vrn-B1, Vrn-D1* проводился на материале 6 генотипов - почти изогенных линий (NILs) озимой пшеницы сортов Мироновская 808 и Ольвия, различающихся по признакам общего габитуса и скороспелости. Определение продолжительности периода всходы-колошение (ПВК) исследовали в полевых условиях на экспериментальном участке кафедры физиологии и биохимии растений и микроорганизмов ХНУ имени В. Н. Каразина в течение 2013-2014 годов. Яровизацию семян изогенных линий мягкой пшеницы проводили при температуре 4ºС в течение 15, 30 и 45 суток, проводя молекулярно-генетический анализ проростков каждого возраста. ДНК выделяли из семян и яровизированных проростков с использованием набора реактивов "Diatom Prep 100" по методике производителя (метод сорбции). Для изучения аллельного состояния генов использовали аллель специфические праймеры: локус *Vrn -A1* - VRN AF VRN-INTIR; VRN AF VRN1R; Intr1/A/F2 Intr1 A/R3; Intr /C /F Intr1/AB/R; *Vrn -B1* - Intr1/B/F Intr/ B /R3; Intr1/B /F Intr /B/R4; *Vrn -D1* - Intr1/ D/ F Intr1/D/R3; Intr1/D /F Intr1/ D / R4 (Grain Gene Mass Wheat). ПЦР проводили по стандартным условиям для амплификации данных праймеров. Распределение продуктов амплификации ПЦР осуществляли путем электрофореза в течение 90-120 минут в 1% и 2% агарозном геле. Результаты фенологических наблюдений показали, что все изолинии сорта Ольвия быстрее переходят к колошению по сравнению с сортом Мироновская 808. Разница по продолжительности ПВК между изолиниями сорта Мироновская 808 значительно больше (6-22 суток), чем между изолиниями сорта Ольвия (3-12 суток). Между собой изолинии по темпам развития можно разделить на контрастные группы - развивающиеся быстрыми темпами и переходящие к колошению через 47-57 суток и медленно развивающиеся, которые колосятся через 61-73 суток от появления всходов. Исследование аллельного состояния локусов *VRN* быстроразвивающихся изолиний показало наличие в генотипе доминантных аллелей генов *Vrn-A1a*, выявленных с помощью двух пар праймеров VRN AF VRN-INTIR и VRN AF VRN1R длина амплификационных фрагментов 965 п.н. и 750 п.н соответственно. Также показано присутствие рецессивных аллелей *vrn-B1* и при использовании праймеров Intr1/B/F Intr/B/ R4 (1149 п.н.). У изолиний развивающихся медленными темпами в генотипе присутствует доминантный аллель *Vrn-B1* - праймеры Intr1/B/ F Intr/B/R3 (709 п.н.). Изучение аллельных вариантов генов системы *VRN* в яровизированных проростках разного возраста - 15, 30 и 45 суток показало, что в течение яровизационного воздействия не происходит изменений аллельных вариантов локусов основных генов яровизации по сравнению с семенами, т.е. никаких мутаций в генотипе изогенных линий в ходе яровизационного воздействия нами не выявлено.

Таким образом, в ходе проведенных исследований выявлена связь аллельного состояния локусов генов системы *VRN* и темпов развития озимой мягкой пшеницы, а также показано отсутствие изменений в их молекулярно-генетическом составе в ходе яровизационного воздействия. Результаты позволяют предполагать, что детерминация темпов развития пшеницы мягкой *Triticum aestivum* L. генами *VRN* осуществляется в их взаимодействии, которое связано с их аллельным состоянием.

ФЕОФИТИНИЗАЦИЯ И ВЫХОД ЭЛЕКТРОЛИТОВ У ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ *ARABIDOPSIS THALIANA (*L.) С ГЕНОМ PT-GFP В ОТВЕТ НА ДЕЙСТВИЕ ПОВЫШЕННОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ

Pheophytinisation and electrolyte leakage in transgenic plants *Arabidopsis thaliana* (L.) with Pt-GFP gene in response to high temperatures

Агеева М.Н., Брилкина А.А., Макаров И.О., Веселов А.П.

Федеральное государственное автономное учреждение высшего образования «Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород, Россия
ageyevamaria@gmail.com

Поддержание pH цитозоля растительной клетки обеспечивает протекание многих метаболических процессов, сохранение структуры белков, активность ионных каналов и пропускную способность мембран. Для исследования воздействий на pH внутри клетки сегодня активно используются генетически кодируемые pH-чувствительные флуоресцентные белки на основе GFP (Green Fluorescent Protein). Но вставка чужеродной генетической информации в геном растения может оказать влияние на протекание биохимических процессов внутри клетки, в результате чего может измениться физиологический ответ растений на внешние раздражители. Согласно литературным данным одним из факторов, влияющих на изменения pH цитозоля, может являться повышенная температура.

Таким образом, целью нашей работы стало сравнение физиологических ответов на тепловое воздействие трансгеных растений *Arabidopsis thaliana* (L.), синтезирующих pH-сенсор Pt-GFP и растений *Arabidopsis thaliana* (L.) экотипа Columbio.

Работу выполняли на 10-12-дневных трансгенных растениях *A. thaliana*, экспрессирующих pH-сенсор Pt-GFP (Notthingham Arabidopsis Stock Centre, UK) и контрольных растениях *A. thaliana* экотипа Columbia, любезно предоставленные Анной Степановой (Prof., PhD, Department of Genetics, North Carolina State University, Raleigh). Растения культивировали в условиях *in vitro* на питательной среде Мурассиге-Скуга.

Для сравнения термоустойчивости исследуемых растений определяли скорость феофитинизации хлорофилла и скорость выхода электролитов при повышенных температурах

Под воздействием физико-химических факторов происходит частичная феофитинизация хлорофилла. Скорость феофитинизации измеряли, фиксируя время пожелтения листьев исследуемых растений в соляной кислоте, после инкубации при повышенной температуре (40°, 44°, 48°, 52°, 56°, 60°C). Время появления первых бурых пятен у генетически модифицированных растений и растений экотипа Колумбиа составило от 4-5 минут при 40°C до 1 минуты при 60°C. Различия в скорости образования феофитина у трансформантов и растений дикого типа статистически не значимы при $p<0,05$.

Выход электролитов определяли, измеряя электропроводимость раствора, в который были погружены побеги растений с помощью кондуктометра МАРК-603/1 (ООО «Взор», Н. Новгород). Для определения термоустойчивости раствор с растениями нагревали до 60°C. Контрольными являлись условия инкубации при 24°C. Результаты выражали как отношение значений, полученных при действии теплового шока к контрольным условиям (усл. ед.). Электропроводимость раствора, в который были погружены побеги генетически модифицированных растений, колебалась от 2 до 2,5 усл.ед,, у контрольных растений секреция электролитов в среднем была на уровне 2,8-4,0. Однако отличия по критерию Стьюдента между контрольными и опытными растениями оказались не достоверны при $p<0,05$.

Таким образом, согласно полученным данным не обнаружены достоверные различия в физиологическом ответе на тепловое воздействие у трансгенных и контрольных растений. Следовательно, растения *Arabidopsis thaliana* (L.), экспрессирующие ген Pt-GFP могут использоваться в качестве модельного объекта для изучения влияния повышенной температуры.

Работа поддержана грантом Минобрнауки РФ (соглашение от 27 августа 2013 г. № 02.B.49.21.0003 между МОН РФ и ННГУ им. Н.И. Лобачевского).

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОРТОДОКСАЛЬНЫХ И РЕКАЛЬЦИТРАНТНЫХ СЕМЯН

Biological characteristics of orthodox and recalcitrant seeds

Азаркович М.И.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; m-azarkovich@ippras.ru

Семена представляют собой уникальное образование. Они одновременно являются и частью (или органом) целого растений, и носителями новой генерации. Покидая материнское растение, семена функционируют как самостоятельные единицы и служат сохранению видового разнообразия высших растений.

У большинства семян при созревании происходит генетически детерминированное высыхание, такие семена называют ортодоксальными. Некоторые семена не высыхают при созревании и неустойчивы к высыханию, их называют рекальцитрантными. Рекальцитрантные семена распространены среди видов, обитающих в тропиках и субтропиках, где климатические условия позволяют семенам прорастать сразу после опадения. Рекальцитрантные семена немногочисленных видов умеренного климата (таких, как дуб, каштан) для выживания в зимних условиях нуждаются в состоянии глубокого покоя.

Для полноценного развития проростка необходимо накопление в тканях семян большого количества запасных веществ. Ортодоксальные семена и их запасные продукты изучаются более 200 лет, так как это один из основных источников питания человека и сельскохозяйственных животных. Известно, что не только белковые, но и крахмалистые, и масличные семена всегда содержат запасные белки. В ортодоксальных семенах накапливаются в большом количестве труднорастворимые запасные белки, имеющие сложную четвертичную структуру, которая дает возможность дегидратации при созревании и регидратации при прорастании семян. Запасные белки синтезируются в эндоплазматическом ретикулуме и накапливаются в изолированных компартментах клетки – алейроновых зернах или белковых телах. Таким образом, запасные белки при созревании семян рано выводятся из метаболизма клетки, они не разрушаются собственными протеазами, при этом гидролитические ферменты тоже запасаются в алейроновых зернах. Запасные белки в вакуолях всегда откладываются вместе с фитином, запасным фосфорным соединением. Процесс образования алейроновых зерен жестко детерминирован: при культивировании незрелого эндосперма клещевины (*Ricinus communis* L.) на питательной среде без азота в изолированной запасающей ткани сильно снижается количество запасных белков, но алейроновые зерна при этом все же формируются, хотя и с непропорционально большим фитиновым глобоидом и редуцированной белковой частью.

В отличие от ортодоксальных семян, рекальцитрантные семена к моменту опадения сохраняют активный метаболизм и высокую влажность. Анализ белков семян каштана конского (*Aesculus hippocastanum* L.) позволил выявить ряд уникальных особенностей протеома, которые отличают рекальцитрантные семена каштана от большинства ортодоксальных семян и, по-видимому, могут иметь отношение к особенностям физиологического поведения исследуемых семян. К этим особенностям можно отнести чрезвычайно низкое содержание глобулинов, преобладание водорастворимых белков, локализованных в цитоплазме и высокий уровень фракции некомпартментализованных термостабильных белков. Исследование белковых спектров осей и семядолей семян каштана не выявило во фракции клеточных структур мажорных компонентов, которые могли бы претендовать на роль запасных белков. С помощью световой микроскопии и специфического окрашивания белка и фитина также не удалось выявить типичных белковых тел в вакуолях клеток осей и семядолей. Однако методом электронной микроскопии удалось обнаружить следы фитина в вакуолях.

Наиболее интересной особенностью белков семян каштана конского является присутствие в них фракции термостабильных белков, т.е. белков, устойчивых к тепловой денатурации. Результаты проведенного исследования показали, что термостабильные белки накапливаются в период созревания семян конского каштана и присутствуют в свежесобранных семенах в значительных количествах. Они составляют более 30% растворимых белков цитозоля в осевых органах и подавляющую массу (более 80%) растворимых белков семядолей. Возможно, некоторые из термостабильных белков в различных семенах являются источником азотсодержащих соединений для проростка. Не исключено, что помимо этой функции, термостабильные белки могут играть какую-то иную специальную роль, связанную с их чрезвычайной термоустойчивостью, особенностями аминокислотного состава и высоким содержанием в клетке. В семенах каштана эти белки могут служить защитой от низкотемпературного стресса (под снегом в зимний период).

Отмеченные особенности белкового состава и ультраструктуры могут быть связаны с рекальцитрантным характером семян каштана конского. Такие характеристики протеома, как отсутствие типичных запасных белков, накопление большого количества термостабильных белков, могут служить диагностическим признаком рекальцитрантности семян.

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ и Программы «Молекулярная и клеточная биология» Президиума РАН.

ИОННЫЙ МЕХАНИЗМ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ СИГНАЛОВ У ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Ionic mechanism of the electrical signals in higher plants

Акинчиц Е.К., Катичева Л.А., Мудрилов М.А., Воденеев В.А.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород, Россия
akinchits_elena@inbox.ru

Одной из первых реакций на внешнее воздействие у всех живых организмов, в том числе и растений, является генерация и распространение электрических сигналов или потенциалов возбуждения. У высших растений к распространяющимся электрическим реакциям, вызывающим функциональные изменения относятся потенциал действия (ПД) и вариабельный потенциал (ВП). ПД возникает в ответ на неповреждающее раздражение, ВП - является стрессовым сигналом о внешнем повреждающем воздействии. Однако механизм формирования потенциалов возбуждения у высших растений остается малоизученным. Согласно существующим представлениям, генерация ПД у высших растений связана с трансмембранными потоками ионов Ca^{2+}, Cl^- и K^+ и временной инактивацией H^+-АТФазы плазматических мембран. В гораздо меньшей степени изучен механизм генерации ВП. Несмотря на тот факт, что в отдельных работах продемонстрирована возможность формирования пассивных потоков ионов, в частности Ca^{2+} и Cl^- во время развития ВП, основной гипотезой о механизме генерации электрической реакции на сегодняшний день остается временная инактивация протонного насоса плазматических мембран. По-видимому, развитие функционального ответа связано с изменением концентрации ионов в клетках и апопласте растений. Таким образом, исследование ионного механизма распространяющихся электрических сигналов у высших растений является необходимым для понимания процессов развития ответных реакций растений на воздействия окружающей среды.

Эксперименты проводили на 2-3-недельных проростках тыквы (*Cucurbita pepo* L.) и пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Регистрацию электрической активности производили с помощью микроэлектродной и макроэлектродной техники. Изменения pCl и pH регистрировали с помощью pCl и pH чувствительных электродов соответственно. Генерацию ПД вызывали постепенным охлаждением, ВП – ожогом края листа открытым пламенем.

Для оценки возникновения пассивных потоков ионов при генерации ВП осуществляли измерение входного сопротивления мембраны, подавая переменный ток заданной амплитуды через измерительный микроэлектрод. Генерация ВП сопровождалась заметным падением величины входного сопротивления клетки, что указывает на активацию ионных каналов.

Амплитуды ПД и ВП значительно снижались в присутствии ингибитора электрогенного H^+-насоса, что свидетельствует о его участии в генерации каждой из реакций. Снижение амплитуды при добавлении 0,5 мМ этакриновой кислоты может указывать на участие ионов Cl^- в процессе генерации ПД и ВП. Удаление из внеклеточной среды Ca^{2+} с помощью 2 мМ ЭГТА приводило к значительному снижению амплитуды ВП и полному угнетению ПД, что говорит об участии ионов Ca^{2+} в генерации реакций. Для оценки участия ионов калия был использован блокатор калиевых каналов ТЕА. Внесение в среду ТЕА не оказывало значительного влияния на уровень мембранного потенциала в покое. При блокировании калиевых каналов амплитуда электрической реакции также меняется незначительно, однако заметно подавляется скорость реполяризации.

При генерации ПД наблюдалось временное снижение концентрации протонов во внеклеточной среде. Изменения pH, связанные с генерацией ВП, имели значительно более длительный характер. Динамика концентрации Cl^- при генерации ПД и ВП имела близкий характер для обеих реакций: уменьшение pCl сменялось увеличением. Для более точной оценки вклада ионов Cl^- и H^+ в развитие ПД и ВП изменения концентрации были отнесены к амплитуде электрической реакции. Изменение концентрации Cl^- составило $5{,}3\cdot10^{-6}$ при ПД и $4{,}7\cdot10^{-6}$ при ВП. Изменения концентрации H^+ при ПД составило $3{,}8\cdot10^{-10}$ и $4{,}7\cdot10^{-10}$ при ВП.

Таким образом, зарегистрированное падение мембранного сопротивления при развитии деполяризации, а также ингибиторный анализ указывают на вклад пассивных потоков Cl^- и K^+ в генерацию ПД и ВП. Активация анионных каналов, вероятно, вызывает вход Ca^{2+} в клетку, что может вызывать инактивацию H^+-АТФазы. Подавление активности H^+-насоса влекут за собой изменения pH снаружи и внутри клеток, а также, наряду с выходящим потоком Cl^-, приводит к развитию деполяризации. Деполяризация мембраны до определенного уровня ведет к открытию K^+-каналов и выходу K^+ из клеток. Выходящий поток K^+ и реактивация H^+-АТФазы формируют фазу реполяризации ПД и ВП. Согласно полученным результатам, генерация ПД и ВП сопровождается сдвигами внутриклеточных концентраций ионов H^+ и Ca^{2+}. Известно, что pH и pCa являются регуляторами целого ряда физиологических процессов в клетке. По всей видимости, сдвиги концентраций H^+ и Ca^{2+} лежат в основе преобразования распространяющегося сигнала в функциональный ответ.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России (проект №6.2050.2014/К).

ПРОЦЕССИНГ ХЛОРОПЛАСТНЫХ ОПЕРОНОВ ЯЧМЕНЯ

Processing of the chloroplast operons in barley

Алейникова А.Ю.[1], Зубо Я.О.[2], Бернер Т.[3], Кузнецов В.В.[1]

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; vkusnetsov2001 @mail.ru

[2] Department of Biological ciences, Dartmouth College, Hanover, New Hampshire 03755, USA

[3] Institut für Biologie/Genetik, Humboldt-Uversität zu Berlin, Chausseestr. 117, 10115 Berlin, Germany

В растительной клетке наряду с ядром носителями генетической информации являются хлоропласты и митохондрии. В то время как в ядре гены транскрибируются в виде отдельных молекул РНК, в хлоропластах большая часть генов объединены в процессе транскрипции в полицистронные кластеры - опероны. Такой механизм транскрипции хлоропластных генов весьма сходен с механизмом транскрипции генов прокариот, однако в отличие от них требует пост-транскрипционного созревания - процессинга. Процессинг хлоропластных генов представляет собой комплексный процесс, который состоит из множества эндонуклеотических разрезов и дальнейшего экзонуклеотического преобразования интермедиатов. Кроме того, параллельно процессу деградации идет процесс защиты транскриптов, который, вероятно, и отвечает за формирование 3′ и 5′ областей зрелых транскриптов. Таким образом, в ходе транскрипции большинства хлоропластых генов образуется общая молекула пре-РНК, которая подвергается пост-транскрипционному созревания, в ходе которого образуются функциональные хлоропластные транскрипты.

Цель этой работы заключалась в том, чтобы изучить процессинг *atpE* транскрипта, входящего в состав *atpB* оперона, и *rrn16* транскрипта, входящего в состав одноименного оперона, в зеленых проростках ячменя разного возраста (3- и 9-дневных), и сравнить его с процессингом этих участков в белых растениях мутанта ячменя *albostrians.*

Для этого эксперимента были синтезированы антисмысловые меченые зонды, комлементарные 3′-концу выбранных генов и гибридизованы с пластидной РНК 3- и 9-дневных зеленых растений и 5-дневных белых растений *albostrians.* После гибридизации некомплементарные участки были подвержены нуклеазной деградации, а комплементарные нанесены на денатурирующий электрофорез.

На основании радиоавтографов этих экспериментов можно сделать вывод, что в хлоропластах листьев 3- и 9-дневных зеленых растений нет транскриптов, которые бы соответствовали 3′-концу кодирующей последовательности *atpE* гена. Кроме того, и у зеленых и у белых растений процессинг 3′-конца *atpE* гена идет с образованием длинного непроцессируемого и нетранслируемого участка. У белых растений мутанта *albostrians* в ходе процессинга образуется один дополнительный транскрипт (короче на 15-20 н.), который соответствует *atpE*-мРНК с более короткой 3′ нетранслируемой областью и, вероятно, представляет собой промежуточный продукт процессинга.

Проба, которая приходится на межгенный спейсер *atpE-trnV* ген*ов,* содержит дополнительный фрагмент размером около 120 н.п. Этот фрагмент мог быть продуктом защиты как 3′, так и 5′-конца этой пробы. На основании размера этого фрагмента можно заключить, что конец транскрипта приходится либо на начало кодирующей области *trnM* гена, расположенного на комплементарной нити ДНК (если защиту осуществлял 3′ конец пробы), либо на его 5′ область (до *TtrnM-32* промотора, если защиту осуществляет 5′ конец третьей пробы).

Для *rrn16* транскрипта, с которого начинается *rrn16* рибосомный оперон, было показано, что эндонуклеазный разрез, который формирует пре-16S РНК, происходит непосредственно перед *trnI* геном и приводит к накоплению у белых растений *albostrians* и 3-дневных зеленых растений промежуточного продукта размером 194 нуклеотида, в то время как у 9-дневных зеленых растений идет его эффективное созревание. Непонятна причина, по которой трехдневные растения накапливают такое количество интермедиата, однако для прокариот показано, что этот участок имеет большое значение в созревании 3′ -конца, а также, возможно, в формировании функциональной вторичной структуры 16S транскрипта. В настоящее время трудно выделить ту 3′ 5′экзонуклезную активность, которая, вероятно, отсутствует в пластидах белых растений мутанта *albostrians,* однако подобные нарушения созревания 16S транскрипта были обнаружены также и для других ядерных мутантов.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке за счет гранта РФФИ №13-04-0068.

СОСТОЯНИЕ ОТДЕЛЕННЫХ ОРГАНОВ РАСТЕНИЙ ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ НА СРЕДЕ С NaCl И $CuSO_4$

Viability of the isolated organs of plants cultivated on medium with NaCl and $CuSO_4$

Алиева З.М.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение Дагестанский государственный университет, Махачкала, Республика Дагестан, Россия; zalieva@mail.ru

Устойчивость растений к стрессам регулируется механизмами клеточного, тканевого, организменного, популяционного уровней. Для комплексной оценки стрессоустойчивости перспективно сочетание традиционных и биотехнологических методов. При этом значим сравнительный анализ реакции на действие стрессов разных органов растений в изолированной культуре ввиду их высокой чувствительности и методических преимуществ. . Это имеет также практическое значение при лабораторной оценке устойчивости культурных, редких и исчезающих видов. При оценке устойчивости растений и изолированных органов интегральными являются показатели роста и процессы регенерации, еще недостаточно изученные в этом отношении. Особое внимание мы уделяли ризогенезу ввиду его роли для восстановления целостности и жизнеспособности структур в условиях стресса. Изолированные органы растений могут выступать и как биотесты при оценке состояния окружающей среды. Разные растительные биотесты постепенно входят в обязательные программы мониторинга и соответствующие стандарты. Показатели, характеризующие активность процессов регенерации растений, с этой точки зрения практически не рассматривались. В связи с этим цель работы – изучение чувствительности изолированных органов у ряда растений к действию абиотических стрессоров (почвенного засоления, ионов тяжелых металлов) и возможностей их использования для диагностики устойчивости растений и в биотестировании среды.

Изолированные органы культивировали в водных растворах солей или на питательной среде в условиях *in vitro*. Для разных объектов и моделей (проростки, изолированные органы и структуры) была характерна специфика реакции на засоление среды. При этом меньшая чувствительность к засолению отмечена у изолированных структур солеустойчивых растений (свекла, подсолнечник, крапива, амарант). В этом отношении наиболее отзывчивы такие показатели, как развитие корней и накопление биомассы каллуса. Выявлена большая чувствительность к действию растворов NaCl черенков солечувствительных видов. У устойчивых объектов (подсолнечника, свеклы, амаранта, крапивы) торможение ризогенеза, задержка сроков развития корней происходила при более высоких концентрациях соли (40 мМ и выше), чем у чувствительных (10-20 мМ). У более чувствительных черенков фасоли и огурца происходило более высокое накопление натрия, чем у подсолнечника. Так, в варианте 10 мМ NaCl оно возрастало у отрезков гипокотилей фасоли почти в 5 раз (с 1.6 до 7.8 мг/г сухой ткани), а у подсолнечника – только в 1.5 (с 10.9 до 15.6 мг/г соответственно). Такое менее интенсивное накопление натрия наблюдалось у гипокотилей подсолнечника и в более концентрированных растворах NaCl и сопровождалось в целом более выраженной жизнеспособностью его отделенных структур. Некоторое несоответствие солеустойчивости объекта и реакции изолированных структур наблюдалось при анализе гипокотильных черенков, в отличие от стеблевых. Так, у фасоли они были устойчивее к действию растворов хлорида натрия по сравнению со стеблевыми черенками, что проявлялось в более высоких показателях выживаемости и укореняемости и менее интенсивном накоплении пролина. Гипокотильные черенки фасоли имели преимущество перед черенками томата и огурца, но уступали черенкам подсолнечника, свеклы. Увеличение проницаемости мембран у гипокотильных черенков фасоли коррелировало со снижением жизнеспособности и наблюдалось при уровне засоления более 40 мМ. У томата и огурца были выражены межсортовые различия, превышающие иногда межвидовые. Высокую чувствительность к засолению проявили листья большинства чувствительных объектов – фасоли, сои, маша, у более устойчивых крапивы и очитка листья укоренялись даже в вариантах, превышающих 75 мМ. Высокая чувствительность и мозаичность реакции выражена и при действии на изолированные органы тяжелых металлов. Концентрации, снижающие их жизнеспособность, сопоставимы с ПДК, в отличие от концентраций, подавляющих прорастание семян и рост проростков, и это позволяет рекомендовать их в качестве биотестов при оценке состояния окружающей среды.

В культуре *in vitro* наибольшую связь с солеустойчивостью объекта имели показатели ризогенеза и относительного накопления биомассы тканей. На примере томата и огурца показано, что межсортовые различия, проявляющиеся в реакции проростков, менее выражены у черенков и еще менее – у эксплантах *in vitro*, что может быть связано с большим вкладом организменного уровня в регуляцию солеустойчивости и интенсивным накоплением солей в корнях.

Анализ различий в пороговой чувствительности структур к стрессам, являющейся результатом дифференциации индивидуума, позволяет судить о сложной природе экологической устойчивости растений.

ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ СОРТОВ ВИНОГРАДА К ЗАСОЛЕНИЮ

Assessment of the resistance of grape varieties to salinity

Алиева Земфира М.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Дагестанский государственный университет», Махачкала, Республика Дагестан, Россия
zemfirik@mail.ru

Изучена возможность диагностики устойчивости винограда к засолению на примере двух сортов - Пино гри (I) и Совиньон зеленый (II) – путем сравнения показателей побего- и корнеобразования, а также накопления биомассы одревесневших стеблевых черенков при культивировании в растворах NaCl (А) 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}М и Na_2SO_4 (Б) 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}М при комнатной температуре и освещении. Контроль – вода.

Распускание почек у I отмечено на 19 сут в 10^{-3}М А, на 22 сут - в контроле и остальных вариантах. У II рост почек отмечен на 19 сут в 10^{-3}М А и в 10^{-2}М Б, на 22 сут в 10^{-2}М А и 10^{-3}М Б, в контроле этот показатель отмечен на 25 сут. Начало корнеобразования у I - на 28 сут в вариантах 10^{-2}М А и 10^{-3}М Б, на 31 сут - в 10^{-3}М А и 10^{-2}М Б. У II корнеобразование началось в А на 31 сут в обоих вариантах, что совпадало с контролем, в Б – на 28 сут также по обоим вариантам. В 10^{-1}М А и Б ростовые процессы у черенков I и II не наблюдались, на 30 сут они высохли.

Накопление биомассы побегов у I А при 10^{-2}М и 10^{-3}М по сравнению с контролем составило 55,7% и 82,1%, у I Б – 60,2% и 46,4%, соответственно. Эти показатели у II для А составили 294,8% и 263,1%, а для Б – 98,8% и 140,1%.

Накопление биомассы корней у I А при 10^{-2}М и 10^{-3}М по сравнению с контролем составило 36,9% и 126,5%, у I Б – 12,0% и 19,2%, соответственно. Эти показатели у II для А составили 531,0% и 696,3%, а для Б – 44,7% и 38,3%, соответственно.

Биомасса корней по вариантам для сорта I оказалась значительно ниже контроля, для II – значительно выше, за исключением варианта 10^{-2} Б. В условиях засоления среды сорта I и II отличались по чувствительности формирования корней и росту побегов. Поэтому менялось и соотношение сухого веса побегов/корней («коэффициент полярности»). Оно у I возрастало при засолении, тогда как у II имело тенденции к снижению.

Таким образом, по сумме этих показателей I менее устойчив к засолению А и Б, тогда как у II наблюдается преобладание биомассы корней над побегами, что свидетельствует о большей его устойчивости.

ВКЛАД ДЕГИДРИНОВ В ПРОТЕКТОРНЫЙ ЭФФЕКТ 24-ЭПИБРАССИНОЛИДА НА РАСТЕНИЯ ПШЕНИЦЫ ПРИ ОБЕЗВОЖИВАНИИ

Contribution of dehydrins in the protective effect of 24-epibrassinolide on wheat plants during dehydration

Аллагулова Ч.Р., Авальбаев А.М, Федорова К.А., Масленникова Д.Р., Шакирова Ф.М.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа, Республика Башкортостан, Россия; shakirova@anrb.ru

Дегидрины представляют собой LEA (late embryogenesis abundant)-белки II группы, которые накапливаются в созревающих зародышах семян в ходе их обезвоживания. Вместе с тем эти белки синтезируются и в тканях вегетирующих растений при воздействии стрессовых факторов, вызывающих нарушение водного режима (засуха, засоление, гипотермия) и обработку АБК, что неудивительно, поскольку именно ей отводят ключевую роль в регуляции устойчивости растений к неблагоприятным условиям. Наряду с АБК в защиту растений от стрессовых факторов вовлекаются и другие фитогормоны, в частности, брассиностероиды (БС). Нами получены данные о снижении степени негативного воздействия дефицита влаги на рост растений пшеницы под влиянием обработки 24-эпибрассинолидом (ЭБ), активного представителя БС. В связи с этим важно было оценить вклад дегидринов в спектр защитного действия ЭБ на растения пшеницы при обезвоживании. Данная работа посвящена исследованию влияния предпосевной 3-х часовой обработки 0.4 мкМ 24-эпибрассинолидом (ЭБ) на содержание дегидринов в растениях двух контрастных по засухоустойчивости сортах пшеницы: Омская-35 (О-35 – устойчивый сорт) и Салават Юлаев (СЮ – неустойчивый сорт) в ходе прорастания в течение 7-ми сут в условиях дефицита влаги, моделируемого 5%-ным маннитом. Изменения в уровне дегидринов в побегах пшеницы анализировали на 3-е, 5-е и 7-е сут прорастания методом иммуноблоттинга с использованием антител, полученных к высоко консервативному К-сегменту дегидринов, любезно предоставленных проф. T.J. Close (США). Иммунопозитивные полипептиды детектировались как в контрольных, так и опытных образцах обоих сортов, при этом наиболее значимые изменения выявлены в уровне дегидринов с М.м. 22, 28 и 55 кД. Сопоставление профилей дегидринов в растениях в ходе обезвоживания позволило обнаружить различия в динамике вызываемого маннитом накопления указанных дегидринов в контрастных по засухоустойчивости сортах пшеницы относительно контрольных вариантов. Так, наиболее реактивными на засуху оказались 22 и 28 кД дегидрины, о чем свидетельствует существенное увеличение их уровня в побегах в ходе всего опыта, хотя по динамике накопления и амплитуде содержания этих дегидринов исследуемые сорта сильно различались. Так, на 3-и сут в растениях сорта О-35 наблюдались максимальные значения уровня дегидрина 22 и особенно 28 кД, превышающие значения контроля почти в 5 и 6 раз, соответственно; на 5-е сут оно снижалось до уровня 4-х-кратного превышения контроля, а на 7-е сут – до 3-х-кратного. В побегах восприимчивого к засухе сорта СЮ, напротив, наблюдалось постепенное увеличение содержания 22 и 28 кД дегидринов, максимум которого составляет трех-кратное превышение контрольного значения. Следовательно, устойчивый сорт О-35 отличается более быстрым и резким ответом низкомолекулярных дегидринов на обезвоживание в сравнении с сортом СЮ. Интересно, что на 7-е сут стресса в побегах обоих сортов обнаружено увеличение втрое содержания относительно контроля дегидрина с М.м. 55 кД, так что к концу опыта в них наблюдалось сопоставимое по уровню количество всех трех исследуемых дегидринов. Нами выявлена способность предобработки ЭБ вызывать накопление дегидринов в побегах 3-х и 5-ти сут проростков в норме: у устойчивого сорта О-35 почти вдвое, а у СЮ – в 1.5 раза, что может служить доводом в пользу предадаптирующего эффекта ЭБ на растения. Предобработанные ЭБ проростки обоих сортов характеризовались дополнительным накоплением 22 и 28 кД дегидринов в начальный период стресса, хотя динамика содержания этих белков различалась. В предобработанных ЭБ растениях сорта О-35 максимальный уровень этих дегидринов приходился на 3-и сут стресса, тогда как у сорта СЮ - на 7-е сут. При этом содержание этих дегидринов в необработанных и предобработанных ЭБ растениях обоих сортов сохранялось на уровне, превышающим контрольные значение втрое, также как и 55 кД дегидрина, который оказался нечувствительным к предобработке ЭБ. Совокупность полученных результатов указывает на вовлечение низкомолекулярных дегидринов в спектр защитного действия ЭБ на проростки пшеницы обоих сортов, при этом протекторный эффект гормона особенно ярко проявился в устойчивом к засухе сорте О-35 в начальный период стрессового воздействия.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 14-04-00731_а.

ПРОТЕКТОРНЫЙ ЭФФЕКТ 24-ЭПИБРАССИНОЛИДА НА РОСТ И ГОРМОНАЛЬНЫЙ СТАТУС КОНТРАСТНЫХ ПО ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ СОРТОВ ПШЕНИЦЫ ПРИ ОБЕЗВОЖИВАНИИ

Protective effect of 24-epibrassinolide on growth and hormonal status of wheat cultivars contrasting for drought resistance during water deficit

Аллагулова Ч.Р., Авальбаев А.М, Федорова К.А., Масленникова Д.Р., Юлдашев Р.А., Шакирова Ф.М.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа, Республика Башкортостан, Россия; shakirova@anrb.ru

Исследовали влияние предпосевного замачивания семян в течение 3 ч 0.4 мкМ 24-эпибрассинолидом (ЭБ) на рост и гормональный статус проростков пшеницы контрастных по засухоустойчивости сортов Омская 35 (О-35 – устойчивый сорт) и Салават Юлаев (СЮ – неустойчивый сорт) в условиях моделируемого 5%-ным маннитом дефицита влаги. Выявлено, что предпосевная обработка ЭБ оказала ростстимулирующий эффект на проростки пшеницы обоих сортов, о чем судили по показателям их сырой и сухой массы на 3-и, 5-е и 7-е сут прорастания, который, однако, сильнее проявлялся на устойчивом сорте. Присутствие маннита в среде прорастания семян существенно тормозило рост проростков обоих сортов, при этом торможение роста было сильнее выражено в растениях неустойчивого сорта СЮ. Предпосевная обработка ЭБ не предотвратила, но существенно снизила степень негативного действия маннита на рост растений пшеницы и вновь защитный эффект фитогормона сильнее проявился на проростках сорта О-35. При оценке экзоосмоса электролитов из тканей подвергнутых обезвоживанию растений было выявлено, что воздействие маннита в течение семи суток вызвало резкое нарушение целостности мембранных структур, что отразилось в значительном увеличении выхода электролитов из тканей, особенно у растений сорта СЮ. Предобработанные ЭБ растения характеризовались пониженным уровнем стресс-индуцированного экзоосмоса электролитов, при этом, как и ожидалось, антистрессовый эффект гормона был ярче выражен у растений сорта О-35. Рост - интегральный показатель степени благоприятности условий произрастания растений, в регуляции которого ключевую роль играет гормональная система. В связи с этим важно было в сравнительном аспекте проследить перестройки в гормональном статусе предобработанных и необработанных ЭБ проростков исследуемых сортов пшеницы в ходе их проращивания на манните. Иммуноанализ гормонов выявил сильно выраженный дисбаланс фитогормонов в растениях обоих сортов пшеницы, ярко выраженный в начальный период стресса, связанный с индуцированным засухой накоплением АБК, падением содержания гормонов цитокининовой природы и особенно ауксина. При этом важно отметить, что в растениях устойчивого к дефициту влаги сорта О-35 амплитуда вызываемых маннитом сдвигов в гормональном балансе заметно меньше, что отражается и в меньшей степени повреждающего действия стресса на их рост. Предобработанные ЭБ растения характеризовались менее выраженными перестройками в гормональной системе, особенно сорта О-35, что, в свою очередь, также отразилось в поддержании показателей их роста при стрессе на более высоком уровне, но заметно уступающем контрольным значениям и тем более таковым ЭБ-предобработанных проростков в норме. Полученные результаты свидетельствуют об эффективности применения предпосевной обработки ЭБ с целью повышения устойчивости различающихся по чувствительности к засухе сортов пшеницы к условиям обезвоживания.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 14-04-00731_а.

AGROBACTERIUM RHIZOGENES ТРАНСФОРМАЦИЯ *ASTRAGALUS MEMBRANACEUS* (FISCH.) BUNGE И ПЕРСПЕКТИВЫ ЕЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

A*grobacterium rhizogenes*-mediated transformation of *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge and its future perspectives

Амброс Е.В., Коцупий О.В., Новикова Т.И.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Центральный сибирский ботанический сад Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия; ambros_ev@mail.ru

Астрагал перепончатый (*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge.) – лекарственное растение из семейства *Fabaceae* Lindl. Корень *A. membranaceus* – известное и хорошо изученное средство традиционной китайской медицины. Современными исследованиями подтверждено иммуностимулирующее, антиоксидантное, кардиотоническое, гепатопротекторное, противодиабетическое, противоопухолевое, антибактериальное, противовирусное и ранозаживляющее виды действия корня астрагала. Фармакологическое действие определяется преимущественно такими группами веществ, как полисахариды, тритерпеновые сапонины (астрагалозиды), изофлавоноиды и другие полифенолы. Введение *A. membranaceus* в культуру *in vitro* открывает перспективу круглогодичного получения растительного материала в качестве возможного источника вторичных соединений. Установлено, что культуры клеток растений *in vitro* способны синтезировать практически все классы вторичных метаболитов. Одним из методов активации биосинтеза является трансформация растений грамотрицательной почвенной бактерией *Agrobacterium rhizogenes.* Трансформации Ri-плазмидой может индуцировать образование «бородатых» корней (hairy roots), способных к биосинтезу ценных вторичных соединений.

Целями нашей работы были получение культуры hairy roots *A. membranaceus* и первичный анализ полученных образцов на содержание биологически активных веществ. В работе использованы *A. rhizogenes* штаммы A4-RT, R-1601, 15834 SWISS, предоставленные И.Н. Кузовкиной (Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Россия). Экспланты получали из 3-х недельных асептических проростков астрагала перепончатого, выращенных в культуре *in vitro*. По компетентности к трансформации испытывали три типа эксплантов: гипокотили, семядоли и первичные побеги проростков. Эффективность трансформации зависела от используемого штамма и типа эксплантов. Появление адвентивных корней при трансформации штаммом 15834 SWISS отмечено на 5-20-е сутки после трансформации, для штамма R-1601 на 7-20-е сутки, а для A4-RT - на 12-20-е сутки. По частоте трансформации самым эффективным оказался штамм 15834 SWISS. Частота трансформации при инфицировании семядолей составила 15,4%, гипокотилей – 9,1% и первичных побегов – 37,5%. При инокуляции штаммами R-1601 и A4-RT для разных типов эксплантов частота трансформации была 2,5%, 4,9%, 13,0% и 0%, 14,8%, 19,5%, соответственно. Прирост сырой биомассы корней оценивали, используя индекс роста (ИР). В нашей работе максимальные значения ИР через 4-недели выращивания были показаны для культуры hairy roots, полученной из семядольных эксплантов, ИР составил 59,6. Для первичных побегов ИР был 20,1, а для корней, полученных при трансформации гипокотилей – 8,3.

Анализ флавоноидов проводили методом ВЭЖХ на жидкостном хроматографе «Agilent 1200» с диодно-матричным детектором и системой для сбора и обработки хроматографических данных ChemStation. Разделение проводили на колонке Zorbax SB-C18. Расчет содержания компонентов производили по стандартной площади пика кверцетина. Обнаружено, что в составе фенольных соединений «бородатых» корней преобладают фенольные кислоты и изофлавоноиды. Содержание фенольных соединений этанольных экстрактов корней пролонгированной культуры, полученной из первичных побегов (12 недель культивирования) составило 2,98% от массы абсолютно–сухого сырья. При 4-ом недельном культивировании содержание фенольных соединений в корнях, полученных из первичных побегов, семядолей и гипокотилей было 0,31%, 0,06% и 0,05%, соответственно.

Таким образом, высокая ростовая активность, значительное содержание и многокомпонентный состав фенольных соединений в корневых культурах длительного культивирования являются показателями для дальнейшего изучения культуры hairy roots *A. membranaceus* в качестве источника ценных вторичных метаболитов.

ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ФОТОСИНТЕЗА РАСТЕНИЙ ВИДА *FAGOPYRUM ESCULENTUM* MILL. И ИХ РЕАЛИЗАЦИЯ В ПРОЦЕССЕ СЕЛЕКЦИИ

Adaptive features of photosynthesis in leaves of plants of the buckwheat and their implementation in the process of selection

Амелин А.В., Заикин В.В.

ФГБОУ ВПО «Орловский государственный аграрный Университет», Орел, Россия; amelin_100@mail.ru

За последние 50 лет урожайность сортов с/х культур выросла более чем в 2 раза, но при этом существенно ухудшились показатели ее потребительских качеств, устойчивость растений к экстремальным биотическим и абиотическим факторам среды. Это обстоятельство, на наш взгляд, может быть обусловлено тем, что в процессе селекции энергетический потенциал растений существенно не меняется, а потому не удается одновременно обеспечивать рост урожайности и ее качество, сохраняя высокий уровень устойчивости растений к стрессам. В силу этого все актуальнее звучит вопрос о создании сортов с повышенной фотосинтетической активностью, эффективно использующих энергию квантов света, как на формирование урожая, так и поддержание адаптивной системы растений. Необходимость выведения для с/х производства таких сортов определяется не только острой конкурентной борьбой на агропродовольственном рынке, но и контрастностью природно-климатических условий России, а также глобальными изменениями климата и возрастающей непредсказуемостью погоды. Эта задача весьма актуальна и для гречихи, урожайность которой в России, по-прежнему, остается низкой (в 2014 г составляла в среднем 0,93 т/га), в том числе из-за недостаточной устойчивости современных сортов к экстремальным факторам погоды. Данная работа посвящена результатам проведенных нами специальных вегетационных и полевых опытов, направленных на выявление потенциальных возможностей фотосинтетического процесса растений культурной гречихи в различных условиях произрастания и характера их изменений в ходе селекции на высокую урожайность.

Исследования проводились в период с 2010 по 2014 гг. в рамках тематического плана ЦКП Орел ГАУ «Генетические ресурсы растений и их использование» по совместной программе с селекционерами Всероссийского НИИ зернобобовых и крупяных культур (ВНИИЗБК). Объектами исследований являлись 14 сортообразцов культуры, которые условно были разделены на 3 группы: местные (К–406 и К–1709); селекции 1930–1970-х гг. (Калининская, Богатырь и Шатиловская 5) и современные сорта (Деметра, Дождик, Дикуль, Инзерская, Девятка, Дизайн, Чатыр -Тау, Батыр и Башкирская красностебельная). Интенсивность фотосинтеза (ИФ) и транспирации (ИТ) листьев определялась на интактных растениях в режиме реального времени с помощью портативного газоанализатора марки Li–COR – 6400 американской фирмы Li–COR.

Результаты исследований показали, что фотосинтез растений гречихи вида *Fagopyrum esculentum* Mill. характеризуется высокими потенциальными возможностями. В годы исследований интервал генотипической изменчивости ИФ листьев находился в диапазоне от 4,65 до 10,80, а фенотипической – от 8,58 до 16,21 мкмоль $CO_2/(м^2с)$. При усилении освещенности листьев с 1000 до 1700 мкмоль $CO_2/(м^2с)$ интенсивность ассимиляции ими молекул углекислоты из воздуха увеличивалась с 10,03 до 16,39 мкмоль $CO_2/(м^2с)$, а росте концентрации молекул CO_2 в воздухе с 0,033 до 0,13%, ее значение возрастало с 8,07 до 18,37 мкмоль $CO_2/(м^2с)$. Причем, наиболее высокой фотосинтетической активностью отличались верхние листья генотипов культуры в период с 10 до 12 ч в фазу массового формирования и налива плодов. Выявленные особенности фотосинтеза растений гречихи, несомненно, имеют важное значение для создания адаптивных сортов в условиях глобального потепления климата, которое связывают, прежде всего, с увеличением концентрации в воздухе молекул CO_2. Однако, адаптивные возможности растений, поддерживать высокую активность фотосинтеза в условиях выраженного дефицита влаги и высоких дневных температур воздуха оказались слаборазвитыми и в результате селекции имеют тенденцию к ухудшению. Современные сорта культуры по ИФ листьев имеют выраженное преимущество перед своими сородичами, в основном, в благоприятных условиях произрастания и то лишь в период массового налива плодов. В засушливом 2010 г. интенсивность фотосинтеза их листьев в указанный период была снижена в среднем на 30,6%, по сравнению с более благоприятными по метеоусловиям вегетационными периодами 2011-2014 гг.

При усилении засухи ситуация становится еще более острой. По результатам вегетационных опытов, уменьшение влажности почвы с 70 до 30% от полной влагоемкости, приводит у растений гречихи к снижению интенсивности фотосинтеза листьев в 4,7 раза. Причем, наиболее значимое падение отмечается, прежде всего, у современных сортов (Дикуль и Дождик), которое достигало в среднем 79,9%, тогда как у местного сортообразца К–1709 оно составляло 66,2%. При этом прослеживается тесная положительная связь ИФ листьев с их транспирацией (r=0,68). Но выявлены генотипы (Дикуль мелкоцветковый), у которых высокая ИФ проявляется и при сниженной транспирации листьев, что позволило их рекомендовать селекции в качестве перспективного исходного материала на засухоустойчивость.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И ПОТЕНЦИАЛЬНО ТОКСИЧНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ В ТАЛЛОМАХ БУРЫХ ВОДОРОСЛЕЙ БЕЛОГО МОРЯ

Distribution of heavy metals and potentially toxic elements in the thalli of brown algae in the White Sea

Андреев В.П., Плахотская Ж.В., Павлинова Е.С., Селезнева А.А.

Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Военно-Медицинская академия имени С.М. Кирова», Санкт-Петербург, Россия; vpandreev@mail.ru

Исследовали содержание марганца, меди, цинка, кадмия, свинца и мышьяка в литоральных и сублиторальных водорослях Белого моря. Талломы фикобионтов собирали на пяти станциях в акватории губы Чупа Кандакшского залива. Данный район считается экологически благополучным. Минерализованные образцы анализировали с помощью атомного спектрометра МГА-915М.

Произрастающие в одном месте разные виды ламинариевых водорослей содержат различные количества одних и тех же элементов. Например, содержание мышьяка и кадмия выше в *Laminaria saccharina* чем в *Chorda filum*. Напротив, медь и свинец в бóльших количествах обнаружены в *Chorda filum*. Это согласуется с литературными данными о видоспецифичности содержания элементов в водорослях при невысоких концентрациях в морской воде.

В слоевищах *Pelvetia canaliculata* на разных станциях верхней и средней литорали в наибольших количествах присутствует мышьяк, в наименьших – свинец. Содержание мышьяка в сыром материале в некоторых случаях несколько превышало величину ПДК. Марганца всегда обнаруживалось больше, чем кадмия и меди. Отмеченное превышение ПДК по As упоминалось другими авторами при анализе ситуации в условиях российского Дальнего Востока.

Интересные данные получены в результате сравнения содержания мышьяка между верхними и нижними участками талломов *Fucus vesiculosus*. Показано, что в районе мыса Картеш краевые, активно растущие веточки, содержат достоверно больше As (мкг/г сухой массы), чем участки у основания каждого растения. В тоже время содержание этого элемента в верхних и нижних частях нитей *Ch. filum* различий между собой не обнаруживают. Это можно объяснить разницей в строении клеточных стенок разных видов водорослей. Талломы *Ch. filum* всегда однолетние и на разных своих участках близки по составу полисахаридов. Клетки же у основания *F. vesiculosus* имеют возраст 6-8 лет, в то время как краевые участки той же водоросли – всего 1-2 года. Поскольку наиболее эффективная аккумуляция поглощаемых элементов происходит в клеточных стенках, различия в составе полисахаридов оболочек клеток разного возраста могут обусловливать и различия в накоплении элементов. В распределении кадмия, свинца и меди обнаружена аналогичная тенденция. Независимо от места сбора водорослей, содержание тяжелых металлов у *F. vesiculosus* было выше в краевых участках слоевища. *Fucus serratus*, произрастающий на верхней сублиторали, также аккумулирует мышьяк и кадмий преимущественно в молодых частях таллома. Устойчивых тенденций в распределении марганца и цинка по слоевищам обоих фукусов установить не удалось.

В целом зарегистрированные нами показатели содержания тяжелых металлов и потенциально токсичных элементов оказались ниже таковых, известных по литературным данным для прибрежий промышленно развитого Уэльса (Аберистви) и Норвегии (Сер-фьорд, Урдхейм, Малм), а также российского Дальнего Востока (бухта Рудная). Это не удивительно, поскольку в выбранном нами районе отсутствуют предприятия промышленности и транспорта. Район расположен недалеко от Кандалакшского заповедника и не подвергается заметному антропогенному воздействию. Однако в Российской Арктике и Субарктике есть районы, нуждающиеся в токсикологической оценке произрастающих там съедобных водорослей. Прежде всего, речь идет об акватории устья реки Пясины, берущей начало недалеко от норильского промышленного района, и о районе у Новосибирских островов, куда возможен ветровой перенос поллютантов от предприятий металлургического комплекса. Речь естественно не идет о промысловой добыче фикобионтов, но оценка степени безопасности водорослей как пищи местных жителей и людей, оказавшихся в экстремальной ситуации, также очень важна.

Полученные в данной работе результаты можно использовать в качестве реперных данных в ходе дальнейших экологических исследований. Кроме того, выявленная неоднородность распределения тяжелых металлов и потенциально опасных элементов в слоевищах некоторых многолетних водорослей заставляет пересмотреть взгляды на целесообразность приготовления усредненной пробы из цельных талломов фукоидов.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ МЕХАНИЗМА ТРАНСМЕМБРАННОЙ ТРАНСЛОКАЦИИ КАЛЬЦИЯ Ca^{2+} -АТФазой СИМБИОСОМНОЙ МЕМБРАНЫ КОРНЕВЫХ КЛУБЕНЬКОВ БОБОВ

Functional identification of the mechanism of transmembrane translocation of Ca^{2+} by Ca^{2+}-ATPase in the symbiosome membrane of broad bean nodules

Андреев И.М., Крылова В.В., Зартдинова Р.Ф., Измайлов С.Ф.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия; krylovavv@list.ru

Известно, что клетки корневых клубеньков бобовых, инфицированные почвенными бактериями, ризобиями, содержат симбиосомы, структуры, ответственные за фиксацию атмосферного азота и представляющие собой бактероиды, окруженные симбиосомным пространством (СП) и симбиосомной мембраной (СМ). Эта мембрана играет ключевую роль во взаимовыгодных отношениях макро- и микросимбионтов, поскольку она контролирует транспорт различных ионов и метаболитов между партнерами симбиоза. К числу различных ионов, транспортируемых через СМ, относится Ca^{2+}, способный включаться в регуляцию разнообразных процессов в растениях, в том числе и тех, которые происходят внутри симбиосом.

Ранее нами обнаружено, что на СМ функционирует Ca^{2+} -транслоцирующая АТФаза IIB типа, во многом ответственная за поведение симбиосом как Ca^{2+}-депо в цитоплазме инфицированных клеток. Однако, вопрос о том, каков механизм функционирования этого фермента, остается пока открытым. Решение этой проблемы представляет большой интерес с точки зрения участия данного фермента в аккумуляции Ca^{2+} в СП симбиосом и тем самым, предположительно, в кальциевой сигнализации внутри бактероидов.

В настоящей работе мы провели экспериментальную проверку гипотезы о том, что Ca^{2+} -АТФаза функционирует на СМ как Ca^{2+}/H^{+} антипортер, где тесно сопряжены между собой потоки Ca^{2+} и H^{+} через мембрану. Они являются результатом Ca^{2+}/H^{+} обмена, происходящего на Ca^{2+}- связывающих сайтах внутри молекулы фермента в ходе его каталитического цикла. Эксперименты, проведенные на симбиосомах и везикулах СМ из корневых клубеньков бобов во многом подтверждают справедливость такой гипотезы, свидетельствуя в пользу того, что АТФ-зависимое поглощение Ca^{2+} данными системами сопровождается защелачиванием их внутренней водной фазы. Наоборот, искусственная модуляция ее pH приводит к соответствующему изменению кинетики трансмембранной транслокации Ca^{2+}. Полученные данные указывают на возможность функционального взаимодействия между Ca^{2+}-АТФазой и протонной АТФазой, функционирующей в СМ.

СТРУКТУРНО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЛИШАЙНИКОВ В УСЛОВИЯХ ОСМОТИЧЕСКОГО СТРЕССА

Structural and physiological characteristics of lichens under osmotic stress

Андросова В.И., Марковская Е.Ф., Свистюк Е.В.

ФГБОУ ВПО «Петрозаводский государственный университет», Петрозаводск, Республика Карелия, Россия
vera28@karelia.ru, volev10@mail.ru

Лишайники – организмы с уникальными свойствами. Помимо специфической морфо-структурной организации им свойственна биохимическая, физиологическая и экологическая уникальность. По сравнению с высшими растениями, адаптационные возможности лишайников к разным условиям окружающей среды, в особенности к экстремальным, гораздо выше. Комбинация адаптационных свойств гриба и высокая продуктивность водоросли обеспечивает организм новыми уникальными адаптационными характеристиками, которыми его компоненты по отдельности не обладают. Лишайники являются пойкилогидридными организмами, поглощение, удержание и потеря воды талломами обусловлены только физическим процессом и зависит от степени влажности окружающей среды. Важным свойством лишайников является устойчивость к осмотическому стрессу, который они переживают несколько раз в течении вегетационного сезона. Степень устойчивости к дегидратации не одинакова у разных видов. В исследованиях видо-специфичных осмотических свойств лишайников в лабораторных условиях используют растворы сахарозы разной концентрации. Целью экспериментального исследования было изучение механизмов реакции лишайников разных экологических групп и жизненных форм на действие осмотического стресса. Объекты исследования – 4 вида лишайников, принадлежащие к двум экологическим группам – эпифиты (*Hypogymnia physodes* (L.) Nyl., *Usnea hirta* (L.) Weber ex F.H. Wigg.) и эпигейные виды (*Peltigera aphthosa* (L.) Willd, *Cladonia arbuscula* (Wallr.) Flot.).

Материал для исследования был собран на территории Ботанического сада ПетГУ в сосняке черничном лишайниково-зеленомошном. Экспериментальная работа была выполнена в лаборатории кафедры ботаники и физиологии растений ПетрГУ в мае-июле 2014 г. Талломы лишайников первоначальны были гидратированы в течение суток, а затем помещены в чашки Петри с раствором сахарозы разной концентрации: 0.2 М, 1 М, 1.5 М, 2 М, 2.5 М. Контрольные образцы были помещены в воду, а также оставлены в сухом состоянии. Контрольные и опытные образцы в течение 7 сут были помещены в условия разного постоянного освещения и температуры: освещение 0,95 клк и 23°С; полная темнота и 23°С; освещение 0,95 клк и 5°С (климатостат «КС-200 СПУ»). Для всех образцов было измерено содержание фотосинтетических пигментов и анатомические показатели таллома (общая толщина, толщина альгального слоя, доля альгального слоя). Содержание фотосинтетических пигментов было измерено спектрофотометрическим методом (СФ «UNICO 2800») с приготовлением спиртовых вытяжек. Анатомические особенности анализировались с использованием микроскопа («МикМЕД-6») с установленной фотокамерой (ТС-500). Все варианты опыта и измерения образцов были проведены в трехкратной повторности. Полученные данные были обработаны с помощью однофакторного дисперсионного анализа.

Толщина талломов исследованных видов варьирует в следующих пределах: *P. aphthosa* – 1387-2325 мкм, *H. physodes* – 104-475 мкм, *C. arbuscula* – 156-280 мкм, *U. hirta* – 225-404 мкм. Наиболее высокая доля альгального слоя в талломе отмечена у вида *U. hirta*, в среднем достигающая 70%. Низкая доля альгального слоя, не превышающая в среднем 30%, отмечалась у видов *P. aphthosa* и *C. arbuscula*. Во всех условиях опыта наибольшие различия у изученных видов были выявлены в значениях толщины альгального слоя, а также его доли в талломе. Результаты исследований показали, что уже при концентрации сахарозы 1,5 М в талломах всех видов происходят заметные морфологические изменения в альгальном слое: уменьшается его общая толщина, он становится более рыхлым, нарушается его целостность, наблюдается плазмолиз клеток фотобионта, а также фиксируются значимые снижения содержания фотосинтетических пигментов в талломах всех тестируемых видов. С увеличением концентрации раствора для вида *P. aphthosa* во всех исследованных условиях наблюдались наиболее значительные, по сравнению с другими видами, морфологические изменения альгального слоя и снижения фотосинтетических пигментов, и в растворе с концентрацией 2,5 М значения всех исследуемых показателей соответствовали таковым в дегидратированном сухом талломе. У вида *H. physodes* даже в условиях высокой концентрации раствора значимого снижения исследуемых параметров зафиксировано не было. Одинаковая степень изменения исследуемых показателей талломов в разных концентрациях отмечена для лишайников *C. arbuscula* и *U. hirta*. Для талломов всех исследованных видов в условиях снижения температуры влияние высокой концентрации на альгальный слой было наименьшее, а зависимости от степени освещения зарегистрировано не было. Таким образом, полученные результаты показали, что среди исследованных видов лишайников наиболее устойчивым к действию осмотической дегидратации является эпифитный вид *Hypogymnia physodes*.

ОСОБЕННОСТИ ФОТОПЕРИОДИЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ МИСКАНТУСА (*MISCANTHUS* SPP.)

Photoperiodic response in various *Miscanthus* species

Анисимов А.А., Хохлов Н.Ф., Тараканов И.Г.

ФГБОУ ВО Российский государственный аграрный университет – Московская сельскохозяйственная академия имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия; alanis152@mail.ru

Мискантус (*Miscanthus* spp.) представляет собой многолетнее травянистое корневищное растение, происходящее из Восточноазиатского региона. Данная культура на сегодняшний день рассматривается в качестве одной из наиболее перспективных для производства лигнино-целлюлозной биомассы, которая может быть использована для выработки биотоплива (пеллетов, биоэтанола, биогаза) и композитных материалов, бумаги и легковесных бетонов. Повышенная холодоустойчивость данного растения (что актуально для зоны умеренного климата) и способность к поддержанию в этих условиях высокой интенсивности фотосинтеза обусловливают характерные для этого растения высокие темпы роста и колоссальную биологическую продуктивность.

Фотопериодическая реакция оказывает влияние как на процессы развития (переход к генеративной фазе), так и на ростовые показатели, что в конечном итоге сказывается на продуктивности растений. Для изучения фотопериодической реакции различных видов мискантуса нами был заложен вегетационный опыт в Лаборатории искусственного климата кафедры физиологии растений РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. Растения выращивали в почвенной культуре в вегетационных сосудах объемом 2 литра. Для исследования были выбраны следующие виды мискантуса: мискантус гигантский (*Miscanthus giganteus*), мискантус сахароцветковый (*Miscanthus sacchariflorus*) и мискантус гибридный (*Miscanthus hybrid*). Растения выращивали в условиях следующих фотопериодов: 10 ч световой день, 18 ч световой день и 24 ч световой день (непрерывное освещение). Растения выращивали в условиях искусственного освещения натриевыми лампами высокого давления ДНаТ, плотность потока фотонов 180 мкмоль/($м^2$ с).

У растений мискантуса сахароцветкового 18 ч фотопериод стимулировал процессы кущения – в течение 80 дней вегетации растения стабильно лидировали по числу образовавшихся побегов, которое к концу опыта достигало 7-9 штук. При этом у растений мискантуса сахароцветкового, которые выращивались в условиях 10 ч и 24 ч фотопериода, не выявлено различий по числу образовавшихся побегов, которое к 80-му дню вегетации достигло 3-5 штук. У растений мискантуса гигантского на ранних этапах вегетации (20-25 день) число побегов на 10 ч фотопериоде было максимальным, однако затем к 40-му дню вегетации темпы кущения у растений 10 ч фотопериода снизились, и до конца вегетации по числу побегов лидировали растения, выращиваемые в условиях 18-часового фотопериода. Аналогичная ситуация отмечена у растений мискантуса гибридного. Таким образом, побегообразование у растений мискантуса всех изучаемых генотипов стимулировалось длинным – 18 ч днем. Кроме того, 18 ч фотопериод стимулировал накопление сухой биомассы у всех изучаемых видов мискантуса. Растения в условиях 18 ч фотопериода накапливали более чем в 2 раза больше сухой биомассы по сравнению с растениями других вариантов. Производили определение интенсивности фотосинтеза при помощи инфракрасного газоанализатора Li-Cor LI-6400RX. Наибольшая интенсивность фотосинтеза в течение всего периода вегетации отмечена у растения мискантуса гигантского, выращиваемого в условиях 18 ч фотопериода. У растений всех видов, выращиваемых в условиях 10 ч и 24 ч фотопериодов, различий по показателю интенсивности фотосинтеза не выявлено.

В условиях вегетационного опыта удалось довести до стадии цветения растения мискантуса гигантского и мискантуса гибридного, растения мискантуса сахароцветкового даже на 150-й день опыта не проявили признаков перехода к генеративному развитию (на широте г. Москвы в полевых условиях данный вид также не зацветает). У растений мискантуса гибридного условия короткого дня (10 ч) существенно ускоряли переход к генеративному развитию (выметывание отмечено уже на 40-й день от начала вегетации), тогда как на 18 ч фотопериоде и в условиях непрерывного освещения растения образовывали метелку лишь на 80-й день от начала вегетации. На широте г. Москвы в полевых условиях данный вид мискантуса также переходит к генеративному развитию. У растения мискантуса гибридного короткий день (10 ч) также стимулировал переход к генеративному развитию, однако лишь на 80-й день вегетации. В условиях 18 ч фотопериода растения данного вида мискантуса зацветали на 140-й день от начала вегетации, тогда как выращивание в условиях круглосуточного освещения вовсе не приводило к переходу к генеративному развитию. Таким образом, растениям данного вида мискантуса при выращивании на широте г. Москвы не хватает длины вегетационного периода для того, чтобы перейти к генеративному развитию. Это свидетельствует о том, что критическая длина дня у растений мискантуса гибридного превышает критическую длину дня у мискантуса сахароцветкового и мискантуса гигантского, что позволяет им зацвести на широте Москвы.

ДАВЛЕНИЕ КАК ФАКТОР РЕГУЛЯЦИИ ТРАНСПОРТА ВОДЫ В РАСТЕНИИ

Pressure as a factor of water transport regulation in plants

Анисимов А.В., Андреева И.Н., Даутова Н.Р., Суслов М.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук, Казань, Республика Татарстан, Россия; anisimov@ kibb.knc.ru

Фактор давления в той или иной форме: атмосферное, осмотическое, гравитационное, капиллярное, транспирационное, тургорное - обязательный компонент метаболизма растений Диапазон физиологических давлений для многих растений простирается до 5 МПа в замыкающих клетках устьиц, для галофитов до 15 МПа, до -12 МПа давление натяжения водных нитей в стволах деревьев. В свою очередь, диапазон изменения водного потенциала клетоклежат в диапазоне от -0.5 МПа в норме, до -4...-5 МПа при сильном обезвоживании. Очевидной ролью давления является обеспечение движущих сил транспорта воды. Наряду с этим ряд фактов, как-то: колебания тургорного давления, феномен автоколебаний корневого давления и др. мотивируют постановку вопроса: может ли давление выступать в качестве регулятора межклеточного переноса воды?

Для ответа на вопрос перспективным представляется анализ реакции на возмущение гидросистемы растения внешним давлением. Задача анализа может упроститься при использовании растений, различающихся наличием/отсутствием ряда элементов гидродинамической системы.

Объектами с развитой сетью плазмодесм и заметной газовой фазой в виде воздуха межклетников служили сегменты всасывающей зоны корня 4-7-дневных растений кукурузы (*Zea mays* L.) сорта Анюта. Контрастным по водному режиму, структуре и объему газовой фазы объектом, заведомо не имеющим плазмодесм, были клетки водной суспензии водоросли *Chlorella vulgaris* Для количественной оценки диффузионного переноса воды использовали формализм эффективных коэффициентов диффузии, измеряемых градиентной спин-эхо техникой ЯМР. Для селекции из интегрального внеклеточного транспорта воды компоненты переноса по симпласту использовали допинг во внеклеточное пространство парамагнитного комплекса Gd-DPA (0,025 М, соль диэтилентриамин пентауксусной кислоты. Давление в диапазоне от отрицательных (вакуум 10^{-3}) до положительных (4 МПа) создавалось в ампуле с исследуемым объектом непосредственно во время проведения ЯМР эксперимента использованием вакуумной техники, сжатого воздуха.

Во всем диапазоне использованных давлений, начиная с отрицательных наблюдается монотонная зависимость диффузионного межклеточного переноса воды в корне от величины давления. Величина D_{eff} изменялась от $(4,0\pm0,5)\times10^{-10}$ м/с^2 при атмосферном давлении до $(15,0\pm0,5)\times10^{-10}$ м/с^2 при давлении в 2 МПа, т.е. в 3,5 раза. При выдерживании образца при фиксированном давлении наблюдается возвращение (релаксация) величины диффузионного переноса в контрольному уровню. Подозрение, что релаксация к контролю связана с тепловым эффектом при изохорическом подъеме давления, не выдерживает критики. Из динамики изменения под давлением ДЗ для образцов корня с парамагнитным допингом следует, что подъем давления приводит к росту межклеточного диффузионного переноса воды по симпластной системе корня. При подаче давления регистрируется усклорение магнитной релаксации вне и внутриклеточной воды корня. Так амплитуда сигнала стимулированного эха при релаксационном интервале в 700 мсек за 50-60 с падает на порядок величины. Сброс давления за те же 50-60 с приводит к восстановлению времен релаксации до уровня порядка в 90% от контроля. Ускорение магнитной релаксации воды в корне связывается с парамагнетизмом, дополнительно растворяющегося под давлением, кислорода воздуха межклетников.

Для контрастного корню по водному режиму и структуре объекту - суспензии хлореллы (*Chlorella vulgaris*), показана малая чувствительность трансклеточного диффузионного переноса воды к внешнему давлению как в норме, так и на фоне увеличения проницаемости плазмалеммы аминазином. Нечувствительность к давлению клеток хлореллы связывается с отсутствием в суспензии хлореллы воздуха и, соответственно, газообразного кислорода и априорным отсутствием плазмодесм.

На основе ранее предсказанной экстремальной зависимости потока воды через плазмодесмы от величины раскрытия шейного сужения, предполагается, что внешнее давление стимулирует срабатывание сократительных структур, локализованных в области шейных сужений плазмодесм. Литературные данные свидетельствуют о зависимости от давления уровня внутриклеточного кальция, необходимого для функционирования сократительных белков. На базе полученных данных может быть построена рабочая гипотеза к механизму пульсации тургорного давления в тканях, содержащих развитую сеть плазмодесм. Активная фаза роста тургорного давления (набухания) клетки связана с осмотическим механизмом увеличения оводненности. Фаза уменьшения объема – пассивная фаза обусловлена падением тургорного давления и обеспечивается эластическими свойствами растянутой ранее клеточной стенки. Переход от активной к пассивной фазе создается переключением проводимости плазмодесм. После падения тургорного давления проводимость плазмодесм восстанавливается до нормы.

ИЗМЕНЕНИЕ ЖК-СОСТАВА ЛИПИДОВ ХЛОРОПЛАСТНЫХ МЕМБРАН РАСТЕНИЙ ТАБАКА ПРИ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОМ ЗАКАЛИВАНИИ

Change of fatty acid composition in lipids of chloroplast membranes of tobacco plants at the low- temperature hardening

Антипина О.В., Попов В.Н., Пчелкин В.П., Цыдендамбаев В.Д.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; trunova@ippras.ru

В условиях естественной среды обитания растения подвергаются воздействию разных неблагоприятных факторов, среди которых особое место занимает низкая температура, поскольку именно она часто ограничивает успешное прохождение всех фенологических фаз растений от прорастания до оставления полноценного потомства или успешной перезимовки растений. Известно, что благодаря способности мембран клеток растений изменять качественный и количественный состав липидов они сохраняют свою структурную целостность. В то же время липиды мембраны и локализованные в ней белки достаточно подвижны, чтобы осуществлять свои функции. Одним из факторов, определяющим текучесть мембран, является изменение степени ненасыщенности жирных кислот (ЖК) входящих в них липидов. Вызванное гипотермией снижение текучести мембран теплолюбивых растений приводит к нарушению функционирования электрон-транспортных цепей хлоропластов и митохондрий, что приводит к образованию активных форм кислорода. Поэтому способность растений изменять текучесть мембран на уровне хлоропластов клеток и исследование изменения состава ЖК у отдельных мембран этих органелл теплолюбивых растений представляет для нас особый интерес.

Объектом исследования служили теплолюбивые растения табака (*Nicotiana tabacum* L.), сортотип Самсун. Растения размножали черенкованием и культивировали при 22°С и 16 ч фотопериоде в камере фитотрона ИФР РАН. Для опытов использовались растения в возрасте 6 недель. Закаливание растений проводили в течение 6 суток при 8°С. Хлоропласты выделяли методом центрифугирования в ступенчатом градиенте перкола (40%/80%). Разделение хлоропластных мембран проводили методом замораживания-оттаивания хлоропластов в гипоосмотической среде с последующим ультрацентрифугированием в градиенте сахарозы. Состав ЖК липидов мембран хлоропластов изучали с помощью ГЖХ-МС их метиловых эфиров.

Эксперименты по разделению мембран хлоропластов на тилакоиды и оболочки (энвелоп) позволили установить значительные различия в ЖК-составе липидов этих мембран. Внешние мембраны хлоропластов в 1,5 – 2 раза превосходили тилакоиды по содержанию насыщенных ЖК (14:0, 16:0, 18:0). Тилакоидные мембраны характеризовались повышенным содержанием α-линоленовой кислоты (56% против 14% в оболочках), мало отличались по содержанию линолевой (4,4% и 6,4%) и значительно уступали по содержанию олеиновой кислоты (0,8% и 8,3%). Такие различия в ЖК-составе липидов исследованных мембран обеспечивали более чем двукратное превышение индекса ненасыщенности (ИН) ЖК липидов тилакоидных мембран (1,945) по сравнению с липидами оболочек (0,811).

В процессе закаливания наблюдались существенные изменения в относительном содержании ЖК хлоропластных липидов. В мембранах оболочек происходило некоторое снижение доли насыщенных, а также моно- и диеновых ЖК на фоне увеличения доли триеновых ЖК. Особенно сильно повышалось содержание α-линоленовой кислоты – более чем в 2 раза (с 14,3% до 31,5%). Фотосинтетические мембраны хлоропластов – тилакоиды также демонстрировали существенные изменения в ЖК-составе липидов при закаливании. В тилакоидах происходило более чем двукратное снижение содержания насыщенных (16:0 и 18:0) ЖК с одновременным ростом уровня α-линоленовой кислоты с 56,8% до 75%. В результате таких изменений ЖК-состава липидов хлоропластов табака в процессе закаливания происходил существенный рост величины ИН в мембранах тилакоидов (на 26%) и оболочек (на 48,5%). Этот показатель характеризует жидкостные свойства мембран и его изменения отражают механизм приспособления мембран к изменяющимся температурным условиям окружающей среды.

Полученные данные показали, что значительное увеличение доли полиненасыщенных ЖК (в основном за счет роста 18:3 ЖК) в тилакоидных и внешних мембранах хлоропластов за время закаливания позволяет поддерживать текучесть этих мембран на уровне, достаточном для стабильного функционирования фотосинтетического аппарата растений табака, что служит предпосылкой для накопления ассимилятов, обеспечивающих комплекс адаптивных перестроек метаболизма, позволяющих закаленным растениям табака выживать в условиях гипотермии.

Работа поддержана грантом Российского фонда фундаментальных исследований № 14-04-31286 мол_а.

РАЗВИТИЕ ГОДИЧНОГО ПРИРОСТА В СТВОЛАХ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ КАК РЕАКЦИЯ НА СЕЗОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ФОТОСИНТЕЗА И ДЫХАНИЯ

Development of annual increment in Scots pine stems as the reaction to seasonal changes in photosynthesis and respiration

Антонова Г.Ф.[1], Стасова В.В.[1], Суворова Г.Г.[2], Осколков В.А.[2]

[1] *ФГБУН Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН, Красноярск, Россия; antonova_cell@mail.ru*
[2] *ФГБУН Сибирский Институт физиологии и биохимии растений, Иркутск, Россия; suvorova@sifibr.irk.ru*

Формирование годичного прироста в стволах сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в течение двух вегетационных периодов, отличающихся резко по температуре и осадкам, изучали во взаимосвязи с фотосинтетической активностью хвои и дыханием, обусловленным ростом вновь образованных и поддержанием уже имеющихся живых тканей ствола. Развитие годичного слоя оценивали по производству камбием клеток ксилемы и флоэмы и накоплению биомассы в отдельные периоды наблюдения. Активность камбия по производству клеток и прирост площади поперечного сечения стенок трахеид за периоды наблюдений рассчитывали из данных морфометрических измерений клеток на поперечных срезах высечек, собранных из стволов в течение вегетации через 7-11 сут. Данные по фотосинтезу и дыханию ствола, фиксированные в сутки, экстраполировали на каждый период наблюдений. Дополнительно рассчитывали дыхание роста и дыхание поддержания. Активность камбия по производству клеток ксилемы и флоэмы во взаимосвязи с фотосинтезом и дыханием оценивали как для всего сезона вегетации, так и в отдельные его периоды. Производство камбием клеток флоэмы зависело от фотосинтеза в основном в мае-июне, клеток ксилемы – в мае-июне и августе. За весь сезон деление камбиальных инициалей в сторону ксилемы показало слабую положительную связь с фотосинтезом (R^2=0,34), в сторону флоэмы – отрицательную (R^2=0.23). В каждом из периодов сезона зависимость от фотосинтеза имела свои особенности, что обусловлено разной реакцией процессов на температуру и доступность влаги. Оптимальная активность фотосинтеза отмечалась при температуре 21-24°С. Температура положительно влияла на образование клеток ксилемы, но зависимость носила неоднозначный характер. Наиболее активно камбиальные инициали делились в сторону ксилемы при температуре не выше 20°С. Образование камбием клеток флоэмы в течение вегетации всегда показывало отрицательную связь с температурой воздуха (R^2=0.48). Оптимальной температурой для делений инициалей в сторону флоэмы была температура не выше 15°С. В каждом из периодов из-за сочетания внешних факторов оптимумы могли изменяться. В мае-июне камбиальные инициали активно делились в сторону ксилемы при 18-19°С, в сторону флоэмы - при 12-13°С. Снижение запаса почвенной влаги, отсутствие осадков и повышение температуры в июле отрицательно влияло на активность камбия. В августе при температуре дня 18°С и ночи 15°С на фоне увеличения количества осадков активность делений камбия в сторону ксилемы резко возрастала. Связь камбиальной активности с общими затратами на дыхание в течение всего сезона была низкой, но в отдельные периоды образование клеток ксилемы имело существенную положительную связь с дыханием роста и дыханием поддержания. Эти составляющие дыхательного процесса в дневное и ночное время суток показали разную степень связи с активностью камбия по производству клеток ксилемы и флоэмы.

Основное количество биомассы годичного слоя, выраженное приростом площади поперечного сечения стенок трахеид, аккумулировалось в мае-июне и августе. Накопление биомассы годичного слоя ксилемы в стволе в течение всей вегетации положительно связано с фотосинтезом (R^2=0,413), как источником субстрата для биосинтеза компонентов клеточных стенок. Эта связь достигает особенно высоких значений в мае-июне (R^2=0,92) и августе (R^2=0,61). В июле при высоких дневных температурах связь была отрицательной, поскольку температура выше 23°С подавляла фотосинтез, и прирост в этот период значительно снижался на фоне увеличения дыхания поддержания и снижения дыхания роста. Даже на фоне значительного количества осадков, зафиксированных в июле в другого сезона, аккумуляция биомассы прекращалась, и дыхание поддержания увеличивалось. Связь суммарного дыхания и прироста биомассы за всю вегетацию более адекватно описывается уравнением второго порядка (R^2=0,67), также как между приростом и дыханием роста (R^2=0,46) и особенно между приростом и дыханием поддержания (R^2=0.62), что показывает наличие определенных оптимальных условий, при которых происходит накопление веществ в клеточных стенках. В отдельные периоды сезона зависимость тоже неоднозначна. В мае-июне связь между приростом и дыханием роста и дыханием поддержания была прямолинейной при R^2=0,91 и R^2=0,93 (соответственно). В июле отложение биомассы прямо зависело от дыхания поддержания (r=+0,92), тогда как связь с дыханием роста отсутствовала. В августе в результате понижения температуры и увеличения активности фотосинтеза аккумуляция биомассы усиливалась, дыхание роста повышалось, дыхание поддержания снижалось.

Установлено, что связь активности камбия и накопления биомассы в стенках клеток ксилемы с погодными условиями отдельных периодов, с фотосинтезом, с дыханием роста и дыханием поддержания адекватно описывается уравнениями второго порядка, что позволяет определять оптимальные показатели физиологических процессов.

СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В РАСТЕНИЯХ ЕЛОВЫХ ЛЕСОВ КОЛЬСКОГО ПОЛУОСТРОВА В УСЛОВИЯХ ТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ

Артемкина Н.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем промышленной экологии Севера Кольского научного центра Российской академии наук, Апатиты, Россия; artemkina@inep.ksc.ru

Значительным антропогенным фактором, влияющим на условия произрастания растений в центральной части Мурманской области, является воздушное промышленное загрязнение, связанное с деятельностью Мончегорской площадки Кольской ГМК ОАО «Норильский никель» (г. Мончегорск (67°51'N 32°48'E)). Промышленные выбросы (Ni, Cu, SO_2) служат одной из главных причин повреждения лесов. Для лучшего понимания возможных механизмов адаптации лесных сообществ, испытывающих техногенные воздействия, необходимо комплексное изучение реакций растений.

Увеличение уровня аэротехногенной нагрузки влияет на биохимический состав и физиологическое состояние растений. В связи с широким распространением в растительном мире и хорошо известной защитной функцией фенольные соединения являются одними из наиболее изучаемых вторичных метаболитов. Известно, что накопление фенолов является механизмом защиты от окислительного повреждения фотосинтетического аппарата в неблагоприятных условиях, в том числе, и в условиях загрязнения тяжелыми металлами.

Целью данной работы являлось изучение особенностей изменения химического состава пяти видов растений, отобранных на разных стадиях деградации еловых лесов, вызванной воздушным промышленным загрязнением. Особое внимание уделялось динамике содержания лигнина и фенольных соединений (ФС).

Объектам исследований послужили многолетние хвоя/листья следующих растений: *Picea obovata* L., *Betula pubescens* Ehrh., *Vaccinium vitis-idaea* L., *Vaccinium myrtillus* L., *Empetrum hermaphroditum* Hager., произрастающих в ельниках Кольского полуострова на разных стадиях их техногенной трансформации, обусловленных различным уровнем промышленного воздушного загрязнения выбросами медно-никелевого комбината «Североникель». Расположение объектов исследования на территории Кольского полуострова: фоновая территория (200 км от медно-никелевого комбината «Североникель» (67°29'N 32°12'E)), дефолиирующие леса (30 км (67°38'N 32°41'E)) и техногенное редколесье (7 км (67°51'N и 32°47'E)).

Образцы были собраны в октябре 1996 г. Измельченное сырье экстрагировали 80%-ным этанолом. Для удаления сопутствующих веществ (смолы, воска, пигменты и др.), мешающих анализу, этанольный экстракт обрабатывали гексаном. Количественное определение суммы ФС в образцах проводили фотоколориметрическим методом с реактивом Фолина-Чокальтеу (Sigma) на фотометре КФК-3 (730 нм). Расчет количества ФС производили по калибровочным графикам, построенным по кверцетину. Содержание лигнина определяли путем обработки пробы 72%-ной серной кислотой, после предварительного кипячения в растворе цетилтриметиламмония бромида (10 г ЦТАБ в 1 л 0,5 М H_2SO_4).

Определили, что уровень содержания ФС в многолетних органах растений следующий: листья *Vaccinium vitis-idaea* L. (94,5-113,0 мг/г) > листья *Vaccinium myrtillus* L. (72,0-99,3 мг/г) > хвоя *Picea obovata* L. (67,7-85,3 мг/г) > листья *Betula pubescens* Ehrh (23,8-46,5 мг/г) > листья *Empetrum hermaphroditum* Hager. (13,0-17,8 мг/г). Таким образом, максимальное содержание ФС характерно для растений рода *Vaccinium*, а минимальное для *E. hermaphroditum*. В хвое *Picea obovata* и листьях *Vaccinium myrtillus* происходит накопление фенольных соединений на загрязненных территориях по сравнению с фоном, а в листьях *Vaccinium vitis-idaea*, *Betula pubescens* и *Empetrum hermaphroditum*, наоборот, отмечено снижение этого показателя.

По содержанию лигнина в различных растениях можно предложить следующий ряд: листья *Empetrum hermaphroditum* Hager. (36,4-42,0%) > листья *Betula pubescens* Ehrh (18,7-33,1%) > листья *Vaccinium myrtillus* L. (11,1-27,9%) > хвоя *Picea obovata* L. (15,7-18,4%) > листья *Vaccinium vitis-idaea* L. (11,7-15,7%). При приближении к источнику загрязнения отмечено накопление лигнина в исходных образцах листьев *Betula pubescens*, *Vaccinium myrtillus* и *Empetrum hermaphroditum* и снижение его содержания в листьях *Vaccinium vitis-idaea* L. В хвое *Picea obovata* L. мы наблюдали незначительное (не подтвержденное статистически) повышение концентрации лигнина на территории техногенного редколесья.

Результаты исследования свидетельствуют о том, что реакция на промышленное загрязнение в значительной степени зависит от вида растения. Одни виды растений, как например *Picea obovata* и *Vaccinium myrtillus*, адаптируются к повышенным антропогенным нагрузкам за счет повышения концентраций фенольных соединений и лигнина, другие (*Vaccinium vitis-idaea*), наоборот снижают содержание этих веществ. А для листьев *Betula pubescens* и *Empetrum hermaphroditum* мы установили, что содержание суммы фенольных соединений в них уменьшается при приближении к источнику загрязнения, а лигнина увеличивается.

Работа поддержана грантом Программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Биоразнообразие природных систем» (подпрограмма «Оценка взаимосвязей биоразнообразие – экосистемные функции лесов») и грантом РФФИ 13-04-01644а.

АССОЦИАТИВНОЕ КАРТИРОВАНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ КАЧЕСТВА У КУЛЬТУР *BRASSICA RAPA* L., ВЫРАЩЕННЫХ В ПОЛЕВЫХ И ТЕПЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ

Association mapping of quality biochemical characters in greenhouse- and field-grown *Brassica rapa* L. plants

Артемьева А.М., Соловьева А.Е., Кочерина Н.В., Чесноков Ю.В.

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства им. Н.И.Вавилова (ВИР)», Санкт-Петербург, Россия; akme11@yandex.ru

Вид репа *Brassica rapa* L. (n=10, геном A) включает многочисленные высоко полиморфные морфотипы экономически важных масличных, овощных и кормовых культур, листовых, кочанных, корнеплодных, образующих цветоносный побег как продуктовый орган. Овощные культуры вида возделываются повсеместно на земном шаре в открытом и защищенном грунте, являются источником ценных питательных и биологически активных веществ (БАВ): белка, углеводов, витаминов, пигментов, фенольных соединений, глюкозинолатов, минеральных веществ, что позволяет использовать овощи вида в лечебных диетах при анемии, сердечнососудистых, язвенных и онкологических заболеваниях. Изменчивость биохимического состава в пределах вида *B. rapa* очень велика. В последнее десятилетие установлены особенности накопления основных элементов биохимического состава и БАВ капустными культурами вида *B.rapa*, в том числе отдельными их сортотипами. Однако к сегодняшнему дню получена лишь ограниченная информация о генетической природе и наследовании хозяйственно ценных биохимических признаков качества у *B. rapa*.

Наша работа посвящена исследованиям генетического контроля хозяйственно ценных признаков, картированию определяющих их проявление хромосомных локусов, поиску ассоциаций молекулярных маркеров с признаками для эффективной помощи селекции (MAS – marker assisted selection, англ.). Генетическое картирование (linkage mapping) позволяет определить относительные позиции ДНК маркеров на группах сцепления. Картирование хромосомных локусов осуществляется через поиск взаимосвязей молекулярных маркеров с признаками и описывает параллельную генотипическую и фенотипическую изменчивость в искусственных и естественных популяциях, в том числе в коллекциях растительных ресурсов. Методически идентификация и картирование осуществляется с помощью QTL (Quantitative Trait Loci – локусы количественных признаков) анализа специально созданных двуродительских расщепляющихся популяций и посредством ассоциативного картирования.

Материалом для ассоциативного картирования биохимических признаков в наших исследованиях служила стержневая коллекция *B. rapa* L. ВИР, состоящая из 96 местных и селекционных сортов-популяций, включающая все ботанические подвиды, разновидности и морфологические типы различного эколого-географического происхождения. Растения выращивали в Пушкинском филиале ВИР (Ленинградская обл.) в полевых и тепличных условиях. Для ассоциативного картирования генетических локусов, определяющих проявление признаков содержания сухого вещества, моно- и дисахаров, белка, аскорбиновой кислоты, общих каротинов и β-каротина и хлорофиллов a и b использовали 258 SSR и S-SAP маркеров. Последние созданы на основе последовательностей мобильных генетических элементов (МГЭ) II класса CACTA. Ассоциативное картирование осуществляли с помощью программы TASSEL.

Нами отмечена значительная изменчивость некоторых элементов биохимического состава в зависимости от условий выращивания: так, в ранне-весенних условиях теплицы образцы коллекции накапливали меньше аскорбиновой кислоты и больше каротинов, чем в полевых летних. Для исследованных биохимических признаков были выявлены SSR и S-SAP ассоциированные с ними маркеры с высоким уровнем значимости. Часть найденных маркеров была сцеплена с проявлением признака в обоих условиях выращивания; это, например, маркеры содержания аскорбиновой кислоты BRMS_7-156 в пятой группе сцепления, BRMS_050-165 в третьей группе, FLC2-225 во второй группе. Отдельные хромосомные локусы контролируют многие биохимические признаки: таковы локусы в шестой группе сцепления, контролирующие содержание сухого вещества и моносахаров (маркер BRMS_89-197), локус в пятой группе сцепления, контролирующий содержание дисахаров и хлорофиллов (маркер BRMS034-150). Особенно большую роль в контроле биохимических признаков играет локус времени перехода к цветению *FLC2*, расположенный в верхней части второй группы сцепления, который сцеплен с признаком содержания сухого вещества в полевых условиях (значение признака у образцов с маркером FLC2-231 10,7%, без маркера 6,8%), аскорбиновой кислоты, моно- и дисахаров (0,99% у образцов с маркером FLC2-207 и 2,63% без маркера), хлорофиллов, каротинов, включая β-каротин. Таким образом, найдено месторасположение хромосомных локусов, контролирующих признаки биохимического состава; ассоциированные с ними молекулярные маркеры могут быть использованы для скрининга образцов коллекций и селекционного материала.

Работа выполнена при частичной поддержке гранта РФФИ 13-04-00128.

СКРЫТАЯ НЕОДНОРОДНОСТЬ СЕМЯН, ОБУСЛОВЛЕННАЯ ЭКОГЕННЫМИ И АНТРОПОГЕННЫМИ ВОЗДЕЙСТВИЯМИ

The hidden inhomogeneity of seeds caused by ecogene and anthropogenous influences

Архипов М. В.[1], Потрахов Н. Н .[2]

[1] Федеральное государственное бюджетное учреждение Агрофизический научно-исследовательский институт, Санкт-Петербургб Россия; valf5000@mail.ru

[2] Санкт-Петербургский Государственный электротехнический университет им. В.И. Ульянова-Ленина, Санкт-Петербургб Россия; kzhamova@gmail.com

В настоящее время проблема скрытой неоднородности семян остается еще недостаточно изученной, не смотря на то что внутренние дефекты и аномалии структуры зерновки могут оказывать значительное влияние на ростовые показатели прорастающего семени в гетеротрофный период. Показана связь скрытых структурных характеристик зерновки с сортовыми признаками и различиями в условиях формирования семян. Интроскопический подход при анализе проблемы неоднородности семян позволил по новому сформулировать понятие биологической полноценности семени с учетом как внешних, так и внутренних его структурных особенностей.

Изучение скрытых структурных нарушений зерновки с помощью неразрушающих методик мягколучевой микрофокусной рентгенографии позволило:

- установить связь этих нарушений с условиями формирования семян;
- оптимизировать режимы семенных агротехнологий для получения семян с минимальным уровнем скрытой травмированности;
- понять причины, позволяющие получать семена с потенциально высоким ростовым потенциалом при различных экогенных и антропогенных воздействиях.

Эффективная реализация возможностей физико-технического и информационного базиса рентгенографии имеет большие перспективы в селекции и семеноводстве с учетом использования ресурсов аккредитованной в АФИ испытательной лаборатории по рентгенографии семян, учитывая что задача получения сильных семян с минимальным уровнем скрытой травмированности продолжает оставаться актуальной для отечественного семеноводства.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что разработка на их основе информационно-аналитической системы «Семинформанализ», позволяющий проводить рентгеновскую «диспансеризацию» производственных партий семенного материала и использование при этом созданного, совместно с ЛЭТИ, банка рентгенобразов семян будет являться научно-методической основой для обеспечения российского зернового сектора семенами высокой потенциальной продуктивности с минимальной долей скрытных дефектов, что даст возможность отечественным семенам быть конкурентоспособными на мировом рынке семян.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ И МЕХАНИЗМЫ ВОЗДЕЙСТВИЯ ВЫСОКОДИСПЕРСНЫХ МЕТАЛЛУРГИЧЕСКИХ ОТХОДОВ НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

Biological effects and mechanisms of influence of high dispersed metallurgical waste on morphological, physiological and biochemical parameters of crops

Астафурова Т.П., Зотикова А.П., Михайлова С.И., Буренина А.А.

Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия; zotik.05@mail.ru

Технологии ремедиации окружающей среды при помощи растений вызывают все больший интерес и приобретают все большее практическое значение. Однако данные о взаимодействии растений с гетерогенными многокомпонентными веществами (металлургическими шламами) практически отсутствуют. Цель данной работы состояла в изучении влияния высокодисперсных металлургических отходов на морфологические и физиолого-биохимические параметры ряда сельскохозяйственных культур в начальные стадии онтогенеза. Исследованный шлам из шламонакопителей Череповецкого металлургического комбината имел в своем составе следующие высокодисперсные элементы: железо – от 50 до 55, кремний – около 8, кальций – более 4, цинк – более 4, алюминий – более 2, сера – более 2 масс. % и др. Растения выращивали в климатической камере при постоянной температуре 22–23°С и освещенности 150 Вт/м^2 до 10–30 дневного возраста и затем выполняли запланированные измерения. Были измерены следующие параметры: высота растений, длина корня, масса надземной и подземной части, объем корневой системы, содержание фотосинтетических пигментов, редуцирующих сахаров, флавоноидов и пролина в листьях, интенсивность фотосинтеза и транспирации, аккумуляция наночастиц. Выраженность биохимических и морфологических изменений у исследуемых растений под воздействием органоминеральных высокодисперсных шламовых образований металлургии зависела от способа выращивания (на водной среде или почве), от стадии онтогенеза и вида растений. Зернобобовые и технические культуры были менее чувствительны, чем зерновые. Исследование 15 видов растений показало видоспецифичность биологических эффектов при воздействии шламов. Наиболее индифферентными к внесению шламов в почву были соя и подсолнечник. Угнетающее действие исследованные шламы оказывали на ячмень яровой, томаты, горчицу. У овса пленчатого обнаружены стимулирующие эффекты воздействия верхней фракции шламов на большинство исследованных показателей. Так, если у 7–дневных растений овса под влиянием 1% и 10% концентрации верхней фракции шламов снижалось содержание фотосинтетических пигментов и интенсивность фотосинтеза, то к 14–дневному возрасту угнетающее воздействие компонентов шлама уже не наблюдалось, наоборот содержание хлорофилла *a* в опытных вариантах было выше на 12–20%, хлорофилла *b* на 15%, а интенсивность фотосинтеза увеличилась в 1,5 раза по сравнению с контролем. Интенсивность транспирации у 7–дневных растений овса снижалась, а к 14–дневному возрасту выравнивалась у контрольных и опытных растений. Однако следует отметить, что накопление компонентов шлама в листьях других растений: фасоли, томатов, огурцов приводило к длительному усилению транспирации и накоплению пролина, что может негативно повлиять на жизнедеятельность растений и привести к их иссушению. Токсичность нативного патологического материала может в дальнейшем проявляться в увядании надземной части и повреждении корневой системы растений, вызывать некрозы, хлорозы, функциональные изменения в пигментных комплексах, уменьшение содержания хлорофилла в тканях.

Видоспецифичность обнаружена также в аккумуляции наночастиц тяжелых металлов железа, цинка и свинца, содержащихся в шламовых отходах металлургии, и их локализации по тканям и органам растений. Содержание тяжелых металлов в органах растений варьировало в зависимости от состава субстрата и продолжительности воздействия. Градиент концентрации железа и цинка в органах растений фасоли менялся в зависимости от продолжительности воздействия от «корень–лист–стебель» в первом сроке (10 дней) до «лист – корень – стебель» во втором сроке (30 дней). При оценке острого токсического эффекта, обусловленного наличием в металлургических отходах тяжелых металлов, на пять морфологических и двух биохимических показателей у овса посевного, огурца и фасоли установлено, что реакция тест – растений была не одинакова, проследить какую либо закономерность оказалось сложно вследствие специфики и разнообразия свойств растительных организмов. Тем не менее, установлены безопасные концентрации и класс опасности исследуемых фракций шламов металлургических отходов, которые для морфологических показателей соответствуют II классу, для биохимических показателей, в частности содержания сахаров, установлен III класс опасности.

Таким образом, наличие в составе металлургических шламов большого количества разнообразных наночастиц существенно изменяет механизмы их взаимодействия с разными растительными организмами и требует специализированных методов анализа как экотоксичности, так и биодоступности высокодисперсных компонентов для разработки способов их биологической утилизации и получения перспективных экономически доступных продуктов.

ИЗМЕНЕНИЕ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ ХЛОРОПЛАСТОВ ЛИСТЬЕВ *ARABIDOPSIS THALIANA* ПРИ АДАПТАЦИИ К ГИПОТЕРМИИ

Alteration of chloroplast ultrastructure in *A. thaliana* leaves upon cold adaptation

Астахова Н.В., Селиванов А.А., Попов В.Н., Бураханова Е.А., Алиева Г.П., Мошков И.Е.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; ie.moshkov@mail.ru

Гипотермия – один из самых распространенных абиотических стрессовых факторов наряду с засухой, засолением и загрязнением антропогенного происхождения. Как правило, снижение температуры в природной среде происходит постепенно, давая возможность растению перестроить процессы метаболизма. Этот процесс называется холодовой адаптацией или закаливанием. Адаптация затрагивает множество физиологических процессов: изменения липидного состава мембран, активности ферментов, так называемой, антиоксидантной системы, накопление растворимых сахаров, процессы фотосинтеза и дыхания, а также изменения ультраструктуры хлоропластов листьев. Проблема устойчивости растений к пониженной температуре остается актуальной уже не один десяток лет; тем не менее, молекулярные, биохимические и физиологические механизмы формирования устойчивости изучены недостаточно.

Объект нашего исследования – растения *Arabidopsis thaliana* Heynh. (L.) экотипа Col-0 – широко известный модельный организм. Растения выращивали при 22°С и 8 ч фотопериоде, адаптацию проводили при 2°С в течении 5 суток.

Как сказано выше, одним из условий формирования адаптации к гипотермии является накопление углеводов. Полученные нами данные показывают, что в период закаливания в листьях растений происходило постепенное увеличение содержания растворимых сахаров. После 5 суток инкубации растений при 2°С содержание глюкозы и сахарозы увеличилось более чем в 3 раза, а содержание фруктозы – в 18 раз, при этом содержание фруктозы в абсолютных значениях оставалось существенно ниже по сравнению с другими формами сахаров. Суммарное содержание сахаров в листьях *A. thaliana* за время закаливания увеличивалось в 4 раза. Поскольку сахара – продукт фотосинтетической активности, поэтому на следующем этапе работы мы исследовали влияние закаливания на фотосинтез и темновое дыхание. В ходе закаливания интенсивность фотосинтеза снизилась в 2 раза уже на первые сутки холодовой экспозиции (с 6,74 до 3,68 мг CO_2/г сухой массы ч), оставаясь на этом же уровне в течение следующих четырех суток. Интенсивность темнового дыхания при этом снижалась более чем в 5 раз. Столь существенные изменения CO_2-газообмена растений приводили к почти 3-кратному росту отношения видимый фотосинтез/темновое дыхание в первые сутки закаливания и 4–5-кратному в конце периода холодового закаливания. С одной стороны, эта закономерность, обнаруженная у растений *A. thaliana,* в полной мере согласуется с ростом содержания растворимых сахаров. С другой стороны, все это указывает на необходимость перестройки фотосинтетического аппарата хлоропластов.

Морфометрический анализ микрофотографий хлоропластов листьев растений *A. thaliana* показал, что уже после первых суток закаливания, когда происходит резкое снижение температуры с 22 до 2°С, площадь хлоропласта двукратно увеличивалась (с 7,2 мкм^2 до 14,28 мкм^2), сохранялась на этом уровне бóльшую часть времени закаливания и снижалась почти до размеров контроля (6,7 мкм^2) на пятые сутки холодовой экспозиции. Ко вторым суткам закаливания происходило резкое снижение площади крахмальных зерен вплоть до их полного исчезновения (с 0,42 мкм^2 до 0,08 мкм^2). Из 100 просмотренных хлоропластов лишь в 23 были обнаружены небольшие крахмальные зерна. В дальнейшем постепенно происходило увеличение площади крахмальных зерен почти до уровня контроля (0,38 мкм^2). Площадь гран в процессе закаливания постепенно увеличивалась с 0.02 до 0.05 мкм^2. Что касается изменения количества структурных элементов хлоропластов (крахмальных зерен, гран, тилакоидов, пластоглобул), то в течение периода закаливания особенно сильно варьировало число пластоглобул, увеличиваясь относительно контроля до 5 раз (с 2,22 до 10,04). На протяжении всего адаптационного периода незначительно изменялось число гран в хлоропласте, и в то же время в 1,5 раза увеличивалось число тилакоидов в гране (с 5,43 до 8,33). В результате общее число тилакоидов (число гран, умноженное на число тилакоидов в одном хлоропласте) по мере закаливания возрастало со 102 до 148.

Таким образом, у растений, прошедших период холодовой адаптации (закаливания), мембранная система хлоропластов оказалась более развитой, чем у незакаленных растений, о чем, в том числе, свидетельствует отмеченное увеличение числа тилакоидов – основного структурного элемента органеллы. Очевидно, в условиях пониженной температуры выявленные адаптационные изменения направлены на поддержание фотосинтетической активности, что, в свою очередь, обеспечивает увеличение содержания растворимых сахаров – одного из ключевых факторов формирования устойчивости к гипотермии.

СОПОСТАВЛЕНИЕ СТРОЕНИЯ КОРЫ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ПИХТ СО СТЕПЕНЬЮ ЕЕ ПОВРЕЖДАЕМОСТИ УССУРИЙСКИМ ПОЛИГРАФОМ

Comparison of some *Abies* species bark structure with their damage degree from four eyed fir bark beetle

Астраханцева Н.В.[1], Баранчиков Ю.Н.[1], Щуров В.И.[2], Александрова М. С.[3], Мухина Л.Н.[3], Серая Л.Г.[3], Пашенова Н.В.[3]

[1] *Институт леса им. В. Н. Сукачева СО РАН, Академгородок, Красноярск, Россия; astr_nat@mail.ru*
[2] *Центр защиты леса Краснодарского края, Краснодар, Россия; czl23@yandex.ru*
[3] *Главный ботанический сад им. Н. В. Цицина РАН, Москва, Россия; info@gbsad.ru*

Изучали строение коры (мертвой корки и живой флоэмы) нескольких видов пихт из коллекции Главного ботанического сада им. Н.В. Цицина в ключе привлекательности коры для втачивания уссурийского полиграфа *Polygraphus proximus* Blandf. – короеда, завезенного с Дальнего Востока, являющего причиной гибели ряда насаждений пихты сибирской *Abies sibirica* Ledeb. в Южной Сибири. Было отобрано девять видов пихт, отличавшихся по степени повреждаемости стволов, начиная от отсутствия поврежденных деревьев (*Abies nordmanniana* Stev., *A. alba* Mill.) и заканчивая заселением *P. proximus* всех имеющихся деревьев изучаемого вида - *A. fraseri* (Pursh.) Poir. Пихты, имеющие многослойную корку, перидермы которой состоят из губчатой и каменистой феллемы (*A. nordmanniana*, *A. holophylla* Maxim., *Abies homolepis* Siebold et Zucc.), оказались менее привлекательны для полиграфа, чем пихты с однослойной коркой и многослойной коркой с феллемой, имеющей однородное строение. Помимо функции механического барьера, способность регулярно образовывать лигнифицированные перидермы, предположительно связана с быстротой иммунных реакций. Ранее для пихты сибирской было зафиксировано, что в месте вспышки численности уссурийского полиграфа особи пихты, способные в дальнейшем формировать настоящие раневые перидермы вокруг быстро образующихся в месте втачивания полиграфа небольших некрозов, дольше сохраняют устойчивость к атакам данного короеда.

В ходе исследования отмечено, что с увеличением степени склерификации флоэмы уменьшалась привлекательность для заселения полиграфа. Наименее уязвимы пихты, имеющие во внешнем слое флоэмы равномерно-высокое содержание склереид с высокой степенью срастания групп. Самая развитая трехмерная сеть склереид у *A. nordmanniana*, далее следует *A. alba*. У *Abies balsamea* (L.) Mill., несмотря на образование крупных срастаний, имеются почти не защищенные участки, сопоставимые с размерами полиграфа. Наименее защищена внешняя флоэма *A. sibirica* и *A. fraseri*. Для среднего слоя флоэмы также важны размеры склереидных групп, степень срастания и плотность расположения. По степени срастания (несмотря на относительно небольшие размеры групп) лидирует *A. nordmanniana*, далее следует *A. alba*. У *Abies concolor* (Gordon & Glend.) Lindl. ex Hildebr. степень склерификации высокая во всех слоях флоэмы, однако, степень срастания низкая, поэтому отдельные особи могут заселяться *P. proximus* при нехватке более «приемлемых» видов пихт и высокой численности вредителя. Флоэма *A. fraseri* практически не склерифицирована, заселены полиграфом все имеющиеся в коллекции особи. У всех изученных пихт, кроме *A. holophylla* и *A. concolor*, склерификация внутреннего слоя флоэмы заметно ниже, чем других слоев, в этом слое флоэмы степень срастания склереидных групп низкая, кроме *A. holophylla*. В целом, строение внутреннего слоя флоэмы почти не оказывает влияния на повреждаемость полиграфом.

Почему важна степень срастания и размеры склереидных групп? Жуку-самцу во флоэме нужно сделать относительно просторную брачную камеру, для ускорения процесса, вероятно, жук предпочитает не перегрызать склереиды, препятствующие его продвижению, а обгрызать окружающие их очень мягкие ткани, выталкивая склереиды наружу. Длинные, сросшиеся и плотно упакованные склереидные группы выгрызать сложно, приходится их перегрызать. Это замедляет продвижение *P. proximus*, увеличивая время для формирования мощного защитного ответа, трансформации имеющихся и синтеза новых метаболитов для увеличения токсичности и снижения привлекательности глубже расположенных слоев флоэмы. Вероятность повреждения полиграфом больных и ослабленных деревьев возрастает, так как возможности формирования защитного ответа у них снижены. Слизевые клетки не являются препятствием для продвижения полиграфа, но при первых втачиваниях часть жуков заливается смесью слизи и смолы. Система слизевых клеток, по-видимому, не рассчитана на частые поранения, поэтому обилие данных клеток, как у *A. fraseri*, не снижает вероятность повторных атак. Отмечено, что число слизевых клеток находится в обратной зависимости от степени склерификации. Связи между повреждаемостью полиграфом и содержанием во флоэме смоляносных полостей, как и с содержанием кристаллов оксалата кальция не обнаружено. Наименее привлекательны для втачивания уссурийского полиграфа виды пихт, обладающие многослойной коркой с чередованием слоев губчатой и каменистой феллемы, имеющие высокую степень склерификации внешнего и среднего слоя флоэмы. Степень устойчивости к *P. proximus* повышается с увеличением степени срастания и размеров склереидных групп, равномерности и плотности их распределения. Наиболее уязвимы пихты с однослойной коркой и однородной феллемой, с низкой степенью склерификации внешнего и среднего слоя и/или неравномерным и неплотным распределением групп склереид, а также пихты, имеющие повышенное и высокое содержание слизевых клеток.

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (грант 14-04-01235а).

СОДЕРЖАНИЕ ХИМИЧЕСКИХ ЭЛЕМЕНТОВ И ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В РАСТЕНИЯХ *VACCINIUM MYRTILLUS* В УСЛОВИЯХ ТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ

Content of chemical elements and phenolic compound in *Vaccinium myrtillus* under technogenic pollution

Афанасьева Л.В.

ФГБУН Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, Улан-Удэ, Россия; afanl@mail.ru

Исследования выполнены на территории Южного Прибайкалья, где одним из доминантных видов травяно-кустарничкового яруса темнохвойных лесов является черника обыкновенная *(Vaccinium myrtillus* L.*)*. Эта территория на протяжении 46 лет подвергалась воздействию атмосферных промышленных выбросов локального источника загрязнения – Байкальского целлюлозно-бумажного комбината. Несмотря на продолжительный период работы комбината, исследований состояния популяций *V. myrtillus*, особенностей ее химического состава в этом районе не проводилось. Хотя такие данные необходимы как для оценки качества и безопасности пищевого и лекарственного сырья, так и выявления механизмов адаптации растений, испытывающих техногенное воздействие. Для определения химического состава в период полного созревания ягод на ключевых участках, заложенных на расстоянии 40-50 км (фоновый район) и 0.5-1.0 км (импактная зона) от комбината, отбирали образцы растений средневозрастного генеративного состояния. Растения разделяли на отдельные органы: придаточные корни подземных побегов, стебли, листья, ягоды.

Анализ данных по содержанию химических элементов показал, что в фоновых условиях корни *V. myrtillus* отличаются более высоким содержанием Fe, Ni, Cr, Pb, Cd, стебли – Mn, Zn, листья – S и Co, ягоды – Cu. В целом, ягоды содержат наименьшие концентрации элементов, что, с одной стороны, может быть связано с невысокой потребностью в них, а, с другой, существованием механизмов, регулирующих накопление и распределение химических элементов между различными органами. Тем не менее, исходя из суточной потребности организма человека в жизненно необходимых микроэлементах, установлено, что 100 г сырых ягод *V. myrtillus* могут обеспечить ее от 2,1% цинком до 96% марганцем.

На техногенно-загрязненной территории в корнях концентрации Fe, Cr, Co, Cd находились в пределах диапазона варьирования фоновых значений, для S, Cu, Ni и Pb отмечена слабая тенденция к увеличению содержания, для Mn и Zn, напротив, выявлена тенденция к снижению. В целом, полученные данные отражают барьерную функцию корневой системы на пути миграции загрязняющих веществ из почвы в растения. Известно, что, благодаря наличию в корнях микоризы, снижающей поглощение избыточных количеств химических элементов из почвы и проявляющей тем самым протекторные свойства, растения рода *Vaccinium* могут существовать даже при высоком уровне почвенного загрязнения.

В листьях и стеблях *V. myrtillus* обнаружено увеличение концентрации S в 1,7-1,8 раза и снижение содержания Mn и Zn в 1,5-2,3 раза по сравнению с фоновыми значениями. В ягодах концентрации большей части анализируемых элементов находились в пределах фоновых значений, только для S отмечена тенденция к увеличению содержания, тогда как уровень Mn был снижен в 2,1 раза, Zn – в 1,7 раза, Cr – в 1,4 раза. Несмотря на то, что в соответствии с ПДК, разработанными для свежих ягод и фруктов (СанПиН 2.3.2.1078-01), плоды *V. myrtillus*, собранные с растений, произрастающих в окрестностях комбината, безопасны для здоровья человека, их ценность как источника микроэлементов значительно снижена.

В последние десятилетия отмечается особый интерес к изучению фенольных соединений, обладающих высокой реакционной способностью и биологической активностью. *V. myrtillus*, как и многие виды семейства вересковых, накапливает значительные концентрации фенолов, что рассматривается как один из механизмов их устойчивости в условиях воздействия неблагоприятных факторов, в том числе техногенных эмиссий.

Проведенные исследования показали, что в фоновых условиях общее содержание фенольных соединений в растениях *V. myrtillus* снижается в ряду листья > стебли > ягоды > корни, флавоноидов – листья > ягоды > стебли > корни. В окрестностях комбината достоверное увеличение общего содержания фенолов отмечено только в листьях – их содержание превышало фоновое значение в 1,3 раза *($p=0,05$)*. Концентрация флавоноидов в листьях увеличивалась в 1,5 раза *($p=0,05$),* в побегах в 1,3 раза *($p=0,05$)* по сравнению с фоновыми значениями, что может свидетельствовать об изменении хода метаболических процессов у растений, произрастающих в условиях техногенного загрязнения. На основе корреляционного анализа данных выявлена связь высокого уровня значимости между общим содержанием фенольных соединений и концентрацией флавоноидов в надземных и подземных органах *V. myrtillus ($r=0,71$, $p = 0,05$)*. Кроме того, отмечено, что при антропогенном стрессе, т.е. увеличении содержания в листьях S (*$r= 0,68$-$0,74$, $p= 0,05$*) и снижении концентрации Mn и Zn (*$r= -0,56$-$0,62$, $p= 0,05$*), уровень общего содержания фенолов, а также флавоноидов в фотосинтезирующих органах возрастает. Для стеблей, корней и ягод эта зависимость значительно слабее или вообще отсутствует.

Работа выполнена в рамках темы № VI.52.1.9. Современное состояние разнообразия растительного покрова и его ресурсов в Байкальском регионе.

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ЛОКАЛИЗАЦИЯ АБК И АУКСИНОВ В ПРИМОРДИЯХ БОКОВЫХ КОРНЕЙ ДЕФИЦИТНОГО ПО АБК МУТАНТА ЯЧМЕНЯ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА АКВАПОРИНЫ И ВЕТВЛЕНИЕ КОРНЕЙ ПРИ ОСМОТИЧЕСКОМ СТРЕССЕ

ABA and auxin immunohystochemical localization in primordia of the lateral roots of ABA deficient mutant barley plants and their impact on aquaporins and root branching under osmotic stress conditions

Ахиярова Г.Р., Шарипова Г.В., Веселов Д.С., Кудоярова Г.Р.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Уфимский Институт биологии Российской академии наук, Уфа, Республика Башкортостан, Россия; akhiyarova@rambler.ru

Изменение архитектуры корневой системы – важная реакция растений, обеспечивающая их адаптацию к дефициту воды. Считается, что подавление ветвления важно для мобилизации ресурсов на рост корней в глубину почвы, где сохраняется влага в отсутствие дождей. Ранее, ингибирование ветвления было зарегистрировано у дефицитных по АБК мутантов арабидопсиса, однако данные о роли АБК в регуляции ветвления у однодольных растений немногочисленны и противоречивы. В настоящей работе было проведено сравнительное изучение иммуногистохимического окрашивания клеток корней на ауксины, АБК и аквапорины в связи с ветвлением корней при действии осмотического стресса на растения дефицитного по АБК мутанта ячменя AZ34 (*Hordeum vulgare* L.*)* и его исходной формы сорта Steptoe. Осмотический стресс создавался путем добавления в питательный раствор полиэтиленгликоля (ПЭГ 6000) до концентрации 6%. Через сутки после начала воздействия 5 мм отрезки нескольких зон корня на разном удалении от его кончика фиксировали карбодиимидом для конъюгирования АБК и ИУК с белками цитоплазмы (для предотвращения вымывания гормонов из тканей при дегидратации), количество боковых корней подсчитывали через сутки и двое суток.

Снижение доступности воды под влиянием добавления ПЭГ в питательный раствор уменьшало в 2 раза количество боковых корней у растений Steptoe, в то время как у мутанта AZ34 дефицит воды вызывал увеличение количества боковых корней. Иммуногистохимическое окрашивание с помощью антител к АБК показало, что осмотический стресс сопровождался усилением интенсивности мечения клеток примордиев боковых корней растений Steptoe, что соответствует данным о накоплении АБК под влиянием дефицита воды. Эта реакция отсутствовала у дефицитного по АБК мутанта (AZ34), и интенсивность окрашивания примордиев боковых корней на АБК не изменялась под влиянием присутствия осмотика. Окрашивание ауксинов в примордиях боковых корней мутанта было выше, чем у Steptoe, как в присутствии ПЭГ, так и в его отсутствии. Эти наши результаты соответствуют данным литературы об активации под влиянием АБК ферментов, катализирующих конъюгирование ИУК с глюкозой, что приводит к снижению уровня ауксинов. Поскольку хорошо известно, что ауксины стимулируют ветвление, ингибирование роста боковых корней под влиянием ПЭГ у растений Steptoe может быть обусловлено пониженным по сравнению с AZ34 уровнем ауксинов в боковых корнях в результате накопления в них АБК. Повышенный уровень ауксинов в примордиях боковых корней способствовал поддержанию ветвления при стрессе у растений AZ34, неспособных к накоплению АБК.

Представляло интерес уточнить, каким образом накопление ауксинов в примордиях боковых корней могло способствовать их росту и выходу на поверхность материнского корня. Опираясь на данные об ингибировании под влиянием ауксинов экспрессии PIP аквапоринов клеточных мембран, Peret с соавторами в 2012 г. опубликовали ставшие популярными результаты математического моделирования, которые предсказали ускорение появления боковых корней в результате снижения под влиянием ауксинов примордиев экспрессии PIP аквапоринов и тургора клеток, расположенных между примордием и поверхностью материнского корня. В связи с этой моделью было интересно проанализировать результаты иммуногистохимического окрашивания на аквапорины. Оказалось, что они соответствовали предсказаниям модели и окрашивание на HvPIP2;1 из семейства аквапоринов было более слабым в клетках коры, окружающих примордий, по сравнению с удаленными от примордия клетками. Единственное исключение составляли растения Steptoe, обработанные ПЭГ. На поперечных срезах их корней было выявлено равномерное окрашивание клеток коры. Поскольку на этих же срезах проявлялось накопление АБК и слабое окрашивание на ауксины в примордиях боковых корней, полученные результаты подтверждают наличие связи между уровнем ауксинов в примордиях корней, ингибированием накопления PIP аквапоринов в окружающих примордий клетках коры и ветвлением корней. Влияние АБК на уровень аквапоринов могло проявляться как через подавление под влиянием этого гормона накопления ауксинов, так и за счет известной способности АБК влиять непосредственно на экспрессию аквапоринов.

Работа выполнена при частичной поддержке гранта РФФИ №14-04-97077.

МОРФОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ТОМАТА, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ КДНК ГЕНА *CYP11A1* ИЗ СТЕРОИДОГЕННЫХ ТКАНЕЙ ЖИВОТНЫХ

Morphological and phenotypic features of transgenic tomato plants expressing cDNA of *CYP11A1* gene from mammalian steroidogenic tissues

Бабак О.Г.[1], Халилуев М.Р.[2], Бердичевец И.Н.[1], Шематорова Е.К.[3], Кильчевский А.В.[1], Шпаковский Г.В.[3]

[1] *Государственное научное учреждение Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь; babak_olga@mail.ru*

[2] *ФГБОУ ВПО Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева, Москва*

[3] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москваб Россия*

Создание и всесторонний анализ трансгенных растений, экспрессирующих гены уникальных стероидогенных белков животных представляет большой интерес для изучения ряда фундаментальных и прикладных вопросов физиологии растений. Такие растения табака были впервые получены в 2001 году и детально изучены учеными России и Беларуси в рамках совместного проекта. В продолжение этого направления исследований в данной работе методом агробактериальной трансформации впервые получены линии томата *Solanum lycopersicum* L., содержащие полноразмерную кДНК гена *CYP11A1*, кодирующего цитохром $P450_{scc}$ из коры надпочечников быка. Полученные независимые трансформанты томата, трансгенная природа которых подтверждена методом ПЦР, адаптированы к условиям *in vivo* и выращены в условиях защищенного грунта для получения поколения Т1. В данном сообщении приводится морфобиологическая характеристика шести независимых первичных линий трансгенных растений томата (№1, 2, 3, 4, 7 и 8), экспрессирующих кДНК гена *CYP11A1.*

Уже на ранних стадиях роста наблюдались фенотипические различия между линиями, что обусловлено, по нашему мнению, различной локализацией в геноме встроенной конструкции. Максимальным коэффициентом размножения (количеством эксплантов для укоренения) характеризовались образцы №2 и №7, минимальным – №4. Образцы линий № 1, 2 и 7 имели интенсивно зеленую окраску, хорошо развитые побеги и листья. Растения линии № 8 имели тонкие стебли, слабое развитие листовой пластинки, бледно-зеленую окраску. Наибольшее проявление фенотипических различий наблюдалось во время цветения второй-третьей кисти. Все образцы, за исключением №2 имели однотипное развитие внутри линии. Растения линии №2 характеризовались наличием образцов с типичным формированием побегов, характерных для полудетерминантных форм (как у исходного сорта Рекордсмен), так и растений с укороченными побегами, характерными для штамбовых форм.

Важной особенностью, отличающей развитие растений-трасформантов линий №3 и №8 была неравномерная окраска листовой пластинки, свидетельствующая о нарушении структуры и функций хлоропластов. Наиболее четкие темно-зеленые и светло-зеленые участки листовых пластинок были у образцов линии №3, тогда как растения линии №8 были в целом бледнее. Образцы линии №8 характеризовались также сильным пасынкообразованием. Несмотря на тонкие стебли, общее развитие биомассы у взрослых растений было не меньше, чем у всех изучаемых линий. Развитие цветочных кистей у ряда линий также имело характерные особенности. Так линия №3 характеризовалась сложной кистью, а образцы линий №7 и №8 имели лишь по 2-4 бутона на кисти.

Общей особенностью линий трансформантов являлась частичная или полная стерильность образующихся плодов. При этом большинство бутонов опадали после цветения, не завязывая плодов. Полноценные семена, пригодные для выращивания последующих поколений, сформировали линии №4 и №7. У линии №1 была наибольшая завязываемость плодов, однако вместо семян формировались лишь семязачатки. Образцы линии №8 формировали плоды нетипичной формы и были полностью без семян. Низкая завязываемость плодов, по нашему мнению, связана с нарушением развития пыльников, так как высыпания пыльцы даже при их изоляции и подсушивании не наблюдалось. В целом, сформированные плоды растений трансформантов имели массу 25-45 г.

В дальнейшем планируется провести изучение трансгенных растений из семенного поколения трансформантов. Учитывая предыдущий опыт исследований растений табака, экспрессирующих кДНК гена *CYP11A1* из стероидогенных тканей животных, планируется отобрать линии с ценными селекционными признаками.

ОЧИСТКА И ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОЛИН-СПЕЦИФИЧНОЙ АМИНОПЕПТИДАЗЫ У ЦИАНОБАКТЕРИИ *SYNECHOCYSTS* SP. PCC6803

Purification and characterization of the proline specific aminopeptidase in the cyanobacteria *Synechocystis* sp. PCC6803

Баик А.С., Миронов К.С., Пожидаева Е.С.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; a_baik@mail.ru

Стабильность белков в клетке играет важную роль в регуляции различных биологических процессов и зависит, в том числе, от активности протеолитических ферментов, включая аминопептидазы. Известно, что время жизни белка определяется первой аминокислотой в полипептидной цепочке, и ее своевременное протеолитическое удаление за счет действия аминопептидаз различного типа позволяет клетке либо активировать целевой белок, либо его разрушить. И в том, и в другом случае, это может служить сигналом для запуска наиважнейших клеточных функций. Поэтому довольно часто аминопептидазы играют роль так называемого молекулярного переключателя в сигнальных путях, участвуя в созревании белков, катаболизме пептидов, регуляции гормональной активности и др.

В данной работе нами впервые охарактеризована *in vitro* пролин-специфичная аминопептидаза одноклеточной цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC6803. Согласно базе NCBI ген *sll0136* (NP_441891), обозначенный как pepP, кодирует белок с мол. массой 48,5 кД, показывающий гомологию к белкам семейства M24, включающих в себя аминопептидазу P, Xaa-Pro дипептидазу и метиониновую пептидазаму. Исследуемый белок PepP был экспрессирован в клетках *Escherichia coli* и очищен на глутатион-сефарозе. Тест с антителами, специфичными к митохондриальной аминопептидазе P3 человека (XPNPEP3) показал высокую специфичность их взаимодействия с выделенным из цианобактерий полипептидом, что подтверждает результаты нашего биоинформационного анализа. Для выделенного белка PepP была определена субстратная специфичность с использованием специфичного флуоресцентного субстрата H-Lys(2-аминобензоил)-Pro-Pro-нитроанилид и неспецифичных субстратов (брадыкинин, азоказеин), pH-стабильность, проведен ингибиторный анализ. Результаты опытов показали, что исследуемый белок обладает Xaa-Pro металлопептидазной активностью.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №15-04-06727.

КИНЕТИКА CO_2 ГАЗООБМЕНА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ОРГАНОВ РАСТЕНИЙ *ARABIDOPSIS THALIANA* L.

CO_2 exchange kinetics of *Arabidopsis thaliana* L. photosynthetic organs

Балаур Н.С., Воронцов В.А., Меренюк Л.Ф., Бадичан Д.

Институт генетики, физиологии и защиты растений Академии наук Республики Молдова, Кишинев, Республика Молдова; bn1939@yahoo.com

Известно, что в последние 15 лет произошел прорыв в изучении молекулярных механизмов биологии развития растений. При этом наиболее популярным обьектом иследований стали растения *Arabidopsis thaliana* (L.). Их малый размер, ускоренное воспроизводство семян, малый размер генома в сравнение с другими растениями (125 млн. пар нуклеотидов), малое число хромосом (5 пар), малое число повторенных последовательностей и уже выявленных 25498 генов при почти полном секвенировании генома (примерно 115,4 мб из 125 мб), укрепило еще больше позиции *Arabidopsis thaliana*, как модельного объекта для изучения физиолого – биохимических процессов у C_3 растений.

Arabidopsis thaliana, как и все C_3 растения, характеризуется C_3 – типом фотосинтеза. Нами был выявлен феномен отсутствия видимого фотодыхания для фотосинтетически активных органов C_3 растений (колос, стручок, стебель, плод).

В контексте изложенного и имея в виду значение фотодыхания в углеродном метаболизме C_3 растений для исследования механизма, который обеспечивает отсутствие видимого фотодыхания у названных фотосинтетически активных органов, и были привлечены растения *Arabidopsis thaliana*.

Исследовалась кинетика CO_2 – газообмена у фотосинтетически активных органов (листья, стебель, соцветия, стручки) растений *Arabidopsis thaliana* на вегетативной и генеративной фазах развития. Кинетику CO_2- газообмена изучали на интактных растениях с применением монитора фотосинтеза РТМ – 48А.

Выявлено, что для листьев растений *Arabidopsis thaliana* характерна такая же кинетика CO_2 – обмена, как в целом для C_3 растений: наличие четырех компонент – нетто-фотосинтез, темновая ассимиляция CO_2, видимое фотодыхание и темновое дыхание, из чего следует , что в листьях растений *Arabidopsis thaliana* активен C_3-тип фотосинтеза. В остальных фотосинтетически активных органах (стебель, соцветие, стручок) выявлены только три компоненты CO_2 обмена – нетто-фотосинтез, темновая ассимиляция CO_2 и темновое дыхание. Видимое фотодыхание не регистрируется (отсутствует).

В природе хорошо известна другая группа растений с C_4-типом фотосинтеза (C_4 растения), у которых видимое фотодыхание сильно редуцировано или совсем не регистрируется(кукуруза, амарант, сорго, просо и др.).

Таким образом, феномен отсутствия видимого фотодыхания является общим явлением для C_3 и C_4 растений, включая и растения *Arabidopsis thaliana* L.

ДИНАМИКА УЛЬТРАСТРУКТУРЫ ХРОМАТИНА И ЯДРЫШКА В КЛЕТКАХ ЗЛАКОВ В НОРМЕ И ПРИ ДЕЙСТВИИ АБИОТИЧЕСКИХ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ

Ultrastructure dynamics of chromatin and nucleolus in cereal cells at normal and abiotic stress conditions

Баранова Г.Б., Баранова Е.Н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия; greenpro2007@rambler.ru

Изучении ядерного компартмента клеток меристематических тканей злаков (ячменя, пшеницы, ржи) на уровне ультраструктуры позволяет получить визуализированные данные о динамике изменений ядерных субкомпартментов: ядрышка, ядерных телец, зон конденсированного и диспергированного хроматина (фрагментов эухроматина и гетерохроматина), микропуфов, интерхроматиновых гранул, структуры ядерных оболочек, ядерных включений, кроме того может быть отдельно изучено преобразование этих субкомпартментов при делении клеток.

В настоящей работе мы исследовали визуальные преобразования субъядерных компартментов при действии абиотических факторов в стрессовом диапазоне, вызывающем явные эффекты на уровне морфологии (остановку или замедление роста): холод, затопление, действие тяжелой воды (D_2O), прорастание в условиях кислого и щелочного pH, засоление хлоридом и сульфатом натрия, токсическое действие алюминия при кислом pH среды, экранирование постоянного магнитного поля. Установлено, что субкомпартменты ядра могут иметь обратимые (не сохраняющиеся после снятия воздействия) и необратимые (ведущие к клеточной гибели) преобразования ультраструктуры. При этом обратимые и необратимые (повреждающие) преобразования могут быть отмечены в клетках, как в митозе, так и в интерфазе, при этом наблюдаемые нарушения различаются.

Были идентифицированы перечисленные ниже изменения, вызываемые действием абиотических факторов на ультраструктурную организацию субкомпартментов ядер клеток злаков (ячменя, пшеницы, ржи): 1) преобразования, связанные с синтезом рибосомных генов и процессингом рибосом: структура и форма ядрышка, соотношение и взаиморасположение фибрилярных центров, плотного фибрилярного и гранулярного компонентов, состояние и расположение ядрышко образующих хромосом, ассоциативное и дезассоциативное расположение ядрышка и участков конденсированного хроматина; 2) преобразования, связанные с конденсацией и деконденсацией хроматина: деконденсация гетерохроматина, формирование сети конденсированного хроматина, изменение расположения участков конденсированного и деконденсированного хроматина; 3) преобразования, связанные с активацией отдельных зон хроматина: образование микропуфов и зон расположения интерхроматиновых гранул; 4) преобразования, связанные с нарушением сплайсинга, процесинга, запасание продуктов транскрипции: формирование ядерных телец ассоциированных с ядрышком, парные и непарные ядерные тельца, размер, количество, расположение и конфигурация ядерных телец; 5) преобразования, связанные с процессингом и структурой ядерной мембраны: инвагинации и «цитоплазматические тунели» в ядре, ассоциация с эндоплазматическим ретикулумом; 6) преобразования, связанные с нарушением клеточного цитоскелета при делении: белковые кристаллы, кристаллизация тубулинового и актинового цитоскелета, липидные капли и мембранные образования в нуклеоплазме, фрагментация ядер при нарушении митоза.

АДРЕСНАЯ ЗАЩИТА ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ КОМПАРТМЕНТОВ ПРИ АБИОТИЧЕСКИХ СТРЕССАХ

Address protection of subcellular compartments from abiotic stresses

Баранова Е.Н.[1], Гулевич А.А.[1], Куренина Л.В.[1], Данилова С.В.[2], Ралдугина Г.Н.[2]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия; greenpro2007@rambler.ru*

[2] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений РАН, Москва, Россия*

Устойчивость растений к повреждающему действию абиотических факторов среды определяется наличием либо отсутствием специфического или неспецифического ответа на стресс на уровне отдельного клеточного компартмента, а также возможностью восстановления его структурной организации и, как следствие, метаболизма после снижения стрессового воздействия. Ранее был установлен ряд маркерных признаков обратимого и необратимого повреждения органоидов и отдельных компартментов растительной клетки. Показано, что нарушения ультраструктурной организации клетки при действии абиотических стрессов затрагивают митохондрии, пластиды, диктиосомы аппарата Гольджи, ядро, ядрышко, элементы цитоскелета. В настоящей работе продемонстрирована возможность адресной и опосредованной защиты элементов ультраструктуры растительной клетки при действии холода и засоления. Объектом исследования были трансгенные и исходные растения томата, табака и картофеля, подвергнутые действию стрессовых факторов.

Повреждающими факторами большинства абиотических стрессов являются окислительный, осмотический и токсический стрессы. Неустойчивые растения часто не обладают чувствительностью к действию стресса, в то время как могут обладать рядом неспецифических ответных реакций, которые вполне могут обеспечить как сохранение целостности структур, так и сохранность метаболических процессов. Для того чтобы такие растения могли переносить неблагоприятные и нехарактерные для них условия, могут быть использованы несколько альтернативных стратегий: 1) изменение метаболизма с целью увеличения диапазона устойчивости растения без увеличения его чувствительности (повышение осмотического давления и др.); 2) модификация сигнальной системы растений, для индукции механизмов запуска ответных реакций (придание искусственной чувствительности); 3) индукция стресса (окислительного, токсического или осмотического), для которого у растения есть защитные механизмы; 4) адресная защита отдельного органоида от стресса (окислительного, токсического или осмотического), для которого у растения есть защитные механизмы с одновременной модификацией сигнальной системы растений, для индукции механизмов запуска ответных реакций (придание искусственной чувствительности).

Большая часть наиболее распространенных культурных растений семейства *Solanuceae* обладает специфической устойчивостью к таким абиотическим стрессам как засуха, высокие температуры. Кроме того известны виды этого семейства, устойчивые к холоду. Предлагаемый анализ стратегий призван оценить успешность биотехнологических приемов модификации устойчивости на субклеточном уровне. В ряде случаев действие промоторов обладает тканеспецифичностью, что проявляется в сохранности компартментов в клетках отдельных тканей, но не всего растения. Другим случаем является сохранность отдельного органоида, при отсутствии улучшения общей устойчивости. Однако в ряде случаев можно установить увеличение устойчивости всего растения как при адресной, так и при неспецифической защите компартмента или при инициации сигнальных или ответных механизмов в результате индукции стресса. При инициации «внутреннего стрессового фактора» вызываемого работой чужеродного фермента, интегрированного в геном растения, наблюдали изменения структурной организации отдельных компартментов клеток (ядра, митохондрий, пластид, эндоплазматического ретикулума, цитоскелета, изменение плотности цитоплазмы). Индукция стресса внутри клетки вызывает неспецифический стрессовый ответ, приводя к увеличению устойчивости растения. Однако в ряде случаев подобные изменения могут значительно изменять метаболизм растения, снижая его продуктивность в условиях нормы, например, растения растут медленнее. Преимущества подобных растений могут быть выявлены только при действии стрессоров (при культивировании в изначально неблагоприятных условиях), при которых рост и продуктивность такого растения окажется значительно выше, чем у исходного типа.

Очевидным выводом из приведенных результатов является необходимость детальной проверки воздействия биотехнологических модификаций и актуальность отбора модифицированных растений методами позволяющими оценивать изменения на уровне тканей и отдельных компартментов клетки. При выборе стратегии увеличения устойчивости растений к абиотическим стрессовым факторам необходимо учитывать не только эффективность и особенности экспрессии промоторов, но и компартментализацию продукта трансгенеза, что может оказать значительное влияние на структуру, а соответственно и связанные с ней метаболические и ферментативные реакции.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 13-08-01323 А.

УЧАСТИЕ АПОПЛАСТНОЙ ИНВЕРТАЗЫ В РЕГУЛЯЦИИ ФОТОСИНТЕЗА И ТРАНСПОРТА АССИМИЛЯТОВ ПРИ ИЗМЕНЕНИИ УСЛОВИЙ АЗОТНОГО ПИТАНИЯ РАСТЕНИЙ

Participation of apoplastic invertase in regulation of photosynthesis and assimilate translocation in plants at changes in nitrogen nutrition level

Баташева С.Н., Абдрахимов Ф.А., Ахтямова Г.А., Хамидуллина Л.А., Чиков В.И.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики, Казань, Республика Татарстан, Россия; sbatasheva@mail.ri

Известно, что при повышенном нитратном питании растений происходит резкое снижение углеводной направленности фотосинтеза и усиливается образование продуктов гликолатного пути, а также подавляется отток ассимилятов из донорных листьев к потребляющим органам. Снижение притока ассимилятов к органам-акцепторам может повышать полегаемость, а также снижать хозяйственную продуктивность растений. Механизм такого действия нитратов до сих пор остается неизвестным. Восстановленные формы азота не вызывают таких изменений метаболизма и транспорта ассимилятов, как нитрат.

Достаточно давно было обнаружено, что подкормка растений нитратами вызывает резкое снижение соотношения меченых сахароза/гексозы в апопласте, который у многих растений является промежуточным компартментом на пути транспорта ассимилятов из клеток мезофилла во флоэму. Снижение отношения сахароза/гексозы может указывать на усиление гидролиза сахарозы в апопласте инвертазой в присутствии нитратов. Тогда ингибирование экспорта ассимилятов и изменения метаболизма под действием нитратов могут быть следствием усиленного гидролиза сахарозы. Такое предположение согласуется с многочисленными данными литературы о сходстве действия нитратов и экзогенных сахаров на углеродный и азотный метаболизм, а также о подавлении экспорта ассимилятов высокой инвертазной активностью в апопласте.

В связи с эти было исследовано влияние нитратов на фотосинтетический и постфотосинтетический метаболизм углерода, а также транспорт ассимилятов у трансформированных растений томатов (*Solanum lycopersicon* L, сорт Moneymaker), у которых активность апопластной инвертазы в донорных листьях была подавлена с помощью РНК-интерференции. Полив нитратами проводили накануне опыта. Было показано, что в контроле фотосинтетический метаболизм углерода и транспорт ассимилятов у растений дикого типа и трансформантов практически не различались. Полив растений нитратами выявил значительные различия между растениями дикого типа и трансформантами. У растений дикого типа наблюдалась типичная реакция растений на резкое повышение уровня нитратного питания: ингибирование оттока ассимилятов, снижение углеводной направленности фотосинтеза и соотношения меченых сахароза/гексозы, а также усиление образование продуктов гликолатного пути и аминокислот. У трансформантов, напротив, не наблюдалось снижения отношения сахароза/гексозы и ингибирования экспорта ассимилятов из донорного листа, однако синтез аминокислот и гликолатный метаболизм также усиливались в ответ на нитрат. При этом у трансформантов наблюдалось накопление меченого углерода во всех листьях.

Делается вывод, что усиление гидролиза сахарозы и ингибирование оттока ассимилятов под действием нитрата связано с активацией апопластной инвертазы, однако другие изменения метаболизма не связаны с усиленным образованием гексоз в апопласте, а связаны, вероятно, с прямым действием самого нитрат-иона или продуктов его метаболизации, например, оксидом азота. В настоящее время и нитрат, и оксид азота рассматриваются в качестве сигнальных молекул, однако возможный механизм их действия на фотосинтез и транспорт ассимилятов также неизвестен.

В опытах с прямым введением в апопласт льна-долгунца (*Linum usitatissimum* L.) нитратов и восстановленного азота было показано, что действие нитрата на фотосинтез и транспорт ассиммилятов не связано с его метаболизацией в корнях, а связано с поступлением в побег самого нитрат-иона. Введение нитратов вызывало появление вакуоли в сопровождающих клетках флоэмы, что также указывает на ингибирование транспорта ассимилятов под действием нитратов. По литературным данным, появление вакуоли в клетках этого типа наблюдается в условиях, ингибирующих отток ассимилятов, таких как наложение ледяной манжеты или снижение освещенности. Введение в побег донора оксида азота – нитропруссида натрия оказывало сходное с нитратами действие на метаболизм углерода и ультраструктуру листа.

ВЛИЯНИЕ НИЗКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ И КАДМИЯ НА СОСТОЯНИЕ МЕМБРАН И АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В КЛЕТКАХ КОРНЯ И ЛИСТА ПРОРОСТКОВ ЯЧМЕНЯ

Effect of low temperature and cadmium on the membrane status and activity of antioxidant enzymes in the cells of the roots and leaves of barley seedlings

Батова Ю. В., Казнина Н. М., Лайдинен Г. Ф.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия; batova@krc.karelia.ru

Воздействие различных стресс-факторов на растения приводит к усилению образования в их клетках и тканях активных форм кислорода (АФК), которые способны вызвать серьезные повреждения. Ключевую роль в ликвидации АФК играют антиоксидантные ферменты, поэтому устойчивость растений к стрессовым воздействиям в значительной степени зависит от эффективности их действия. Нами проведено изучение влияния низкой температуры, ионов кадмия, а также их совместного действия на интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) и активность ряда антиоксидантных ферментов в корнях и листьях проростков ячменя.

Растения ячменя (*Hordeum vulgare* L.) с. Зазерский 85 выращивали в камере искусственного климата в рулонах фильтровальной бумаги при температуре воздуха 24ºС, относительной влажности воздуха 60-70%, освещенности 10 клк, 14 ч фотопериоде на половинном растворе Кнопа с добавлением микроэлементов. По достижении 3-дневного возраста проростки подвергали воздействию температуры 4ºС, кадмия (100 мкМ) или их совместному действию. Часть растений оставляли при прежних условиях (контроль). Через 4 дня после начала опыта оценивали влияние указанных факторов на интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ), а также активность супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ) и гваяколовой пероксидазы (ГвПО). Интенсивность ПОЛ оценивали по накоплению малонового диальдегида (МДА). Содержание МДА и общую активность СОД, КАТ и ГвПО измеряли спектрофотометрически.

Проведенные опыты показали, что содержание МДА в корнях и листьях ячменя при действии низкой температуры и ионов кадмия существенно различалось. Так, если в корнях возрастание количества МДА (в 1.5 раза по отношению к контролю), наблюдалось только под влиянием низкой температуры, то в листьях аналогичные изменения были отмечены, лишь при воздействии кадмия. Реакция на совместное действие низкой температуры и ионов металла также была органоспецифичной. В подземных органах при совместном действии стрессоров негативное влияние на состояние мембран усиливалось – содержание МДА оказалась в 2 раза выше, чем в контроле и на 25% выше, чем при действии только низкой температуры. В листьях, наоборот, было отмечено 25%-ное снижение содержания МДА по сравнению с действием только ионов кадмия.

Установлено также, что и при раздельном и при совместном действии низкой температуры и кадмия у растений ячменя происходят значительные изменения в активности ферментов, участвующих в ликвидации АФК. Причем характер этих изменений зависит как от варианта воздействия, так и от органа растения. В частности, в корнях в присутствии кадмия наблюдалось увеличение активности антиоксидантных ферментов: активность СОД и ГвПО возрастала на 32% по сравнению с контролем, а активность КАТ – в 2 раза. Это, по-видимому, способствовало поддержанию интенсивности ПОЛ в клетках корня на уровне контроля. В отличие от этого воздействие низкой температуры приводило к снижению активности СОД, ГвПО и КАТ на 21%, 48% и 77%, соответственно. Аналогичные изменения наблюдались и при совместном действии стрессоров. Уменьшение активности антиоксидантных ферментов в корнях при этих видах воздействия сопровождалось усилением ПОЛ, что подтверждает важную роль названных соединений в защите мембран от повреждений, вызванных избытком АФК. В листьях изменения активности ферментов носили несколько иной характер, чем в корнях. При всех типах воздействия наблюдалось усиление активности СОД, причем примерно в равной степени (в 2.7-2.8 раза по отношению к контролю). Активность ГвПО также резко возрастала, но если при воздействии кадмия она увеличивалась в 11 раз по сравнению с контролем, то под влиянием низкой температуры и при совместном действии стрессоров – в 2 раза. Активность же КАТ в листьях во всех вариантах опыта оставалась на уровне контрольных растений. Необходимо отметить, что, несмотря на высокую активность ГвПО в клетках листа при действии кадмия, содержанием в них МДА оказалось заметно выше, чем при совместном воздействии низкой температуры и ионов металла. Причины такой реакции пока неясны. Возможно, они связаны с активизацией под влиянием низкой температуры дополнительных механизмов, способствующих увеличению устойчивости к ионам металла.

Результаты исследования позволяют заключить, что ответная реакция на раздельное и совместное действие низкой температуры и кадмия в корнях и листьях проростков ячменя заметно различается: в корнях при совместном воздействии наблюдается усиление интенсивности ПОЛ, тогда как в листьях его уменьшение. Важную роль при этом играют изменения в активности ферментов антиоксидантной системы, осуществляющих защиту клеток от окислительного стресса.

РОЛЬ КАЛЬЦИЯ В РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ У ЦИАНОБАКТЕРИИ *SYNECHOCYSTIS* В УСЛОВИЯХ ХОЛОДОВОГО И СОЛЕВОГО СТРЕССА

The role of calcium in regulation of gene expression in the cyanobacterium *Synechocystis* under salt and cold stress

Бачин Д.В., Лось Д.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; dbachin@gmail.com

Ионы кальция, выступая в качестве вторичного месседжера, являются важным регулятором множества клеточных процессов в живых организмах. Роль Ca^{2+}-сигналинга в клетках прокариот остается мало изученной. В частности, не понятна роль кальция в передаче стрессовых сигналов у цианобактерий.

В работе проводилось изучение двух групп стресс-индуцируемых генов цианобактерии *Synechocystis sp.* PCC 6803. Регуляция экспрессии генов первой группы осуществляется через двухкомпонентную систему, связанную с гистидинкиназой Hik33; для генов второй группы механизмы регуляции стресс-зависимой экспрессии неизвестны. В работе использовалось сочетание методов ингибиторного анализа и обратной транскрипции с последующей полимеразной цепной реакцией (ОТ-ПЦР). Ингибиторный анализ проводился с применением ингибиторов кальциевых каналов Верапамила и $LaCl_3$, агониста кальциевых каналов Bay K 8644 и кальциевого ионофора A23187.

В ходе исследования выявлено снижение стресс-индуцируемой экспрессии практически всех исследуемых генов (*hliB*, *sigD*, *rbpA*, *rpl3*, *rpoA*) под воздействием ингибитора и агониста кальциевых каналов, а также кальциевого ионофора. Помимо этого были обнаружены гены, стрессовая экспрессия которых увеличивалась под воздействием агониста кальциевых каналов или ионофора. Полученные результаты свидетельствуют о возможном участии кальция в регуляции транскрипции этих генов. Эффект снижения экспрессии из-за противоположно-действующих факторов может иметь несколько объяснений. Во-первых, усиление экспрессии генов может происходить при определенном диапазоне значений внутриклеточной концентрации кальция. В этом случае как слишком низкие, так и слишком высокие концентрации кальция могут приводить к подавлению экспрессии генов. Во-вторых, возможно осуществление регуляция экспрессии при помощи так называемых *кальциевых росчерков*, нарушение которых может вызывать любой фактор, изменяющий внутриклеточную концентрацию кальция. Также не стоит исключать возможности того, что кальций участвует в регуляции сверхспирализации ДНК.

Среди исследуемых генов, наблюдалось различие в изменении экспрессии при холодовом и солевом стрессе. Данный факт заслуживает внимания, если говорить о генах, контролируемых двухкомпонентной системой регуляции, которые при холодовом и солевом стрессе контролируются одной и той же гистидинкиназой, но разными регуляторами ответа. В этом случае можно предположить о воздействие кальция на регуляторы ответа некоторых двухкомпонентных систем регуляции.

Также стоит отметить, что среди найденных кальций-зависимых генов присутствовали как регулируемые через гистидинкиназу Hik33, так и имеющие неизвестные механизмы регуляции. Этот факт говорит об возможности участии ионов кальция в разных регуляторных системах.

Таким образом, показано, что кальций играет важную роль в регуляции экспрессии стресс-зависимых генов у цианобактерии *Synechocystis* и может быть как частью различных регуляторных систем, так и играть роль в изменениях сверхспирализации ДНК.

ВЛИЯНИЕ ПРИРОДНЫХ И СИНТЕТИЧЕСКИХ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА РАСТЕНИЙ НА АКТИВНОСТЬ КАТАЛАЗЫ В ЛИСТЬЯХ ПРОРОСТКОВ КУКУРУЗЫ, ПОДВЕРЖЕННЫХ ДЕЙСТВИЮ МЕТАЛЛОВ

Natural or synthetic plant growth substances effect on catalase activity in maize (*Zea mays* L.) seedlings against divalent metals treatment

Башмаков Д.И.

ФГБОУ ВПО Мордовский Государственный Университет имени Н.П. Огарева, Саранск, Россия
dimabashmakov@yandex.ru

Многие двухвалентные металлы, к которым относятся большинство тяжелых металлов (ТМ) и некоторые радионуклиды (Sr), входят в группу опаснейших загрязнителей окружающей среды. Их технофильность возрастает с каждым годом. Попадая в растительный организм, металлы существенно нарушают физиологические процессы и снижают продуктивность растений; они включаются в биологические круговороты и, передаваясь по трофическим цепям, создают серьезную угрозу здоровью людей. Поэтому одна из задач, стоящих перед физиологической наукой, – разработка способов нейтрализации вредного для растений воздействия неблагоприятных факторов среды, включая «металлический пресс». В этой связи формируется все больший интерес к биологически активным веществам – регуляторам роста (РР), которые применяются в качестве нетоксичных и неповреждающих элементов защиты и повышения устойчивости растений к биотическим и абиотическим факторам. Особое место среди РР занимают синтетические аналоги цитокининов, брассиностероиды и некоторые другие вещества природного или искусственного происхождения, обладающие выраженной антистрессовой активностью. В ряде экспериментальных статей раскрыто влияние РР на отдельные физиологические процессы в растениях при действии ТМ. Однако эффекты РР на разные сорта и виды растений, подверженных действию ТМ, неоднозначны. Физиологические механизмы, вовлеченные в реакцию растений на совместное действие РР и ТМ, остаются малоизученными. Известно, что ТМ изменяют окислительный статус растений, индуцируя резкое повышение генерации активированных форм кислорода (АФК) и окислительный стресс. В ответ на повышенные уровни АФК в растениях активируется работа антиоксидантной системы, в которую входят как низкомолекулярные антиоксиданты, так и антиоксидантные ферменты. Каталаза (КФ 1.11.1.6) является индуцибельным ферментом, активность которого резко изменяется ответ на усиление окислительного стресса. Поэтому каталазу можно считать весьма чутким индикатором изменения резистентности растений, подверженных действию ТМ. Цель работы – исследование влияния предпосевной обработки семян регуляторами роста на активность каталазы в листьях кукурузы на фоне пониженных и повышенных концентраций ряда двухвалентных металлов.

Семена кукурузы выдерживали 12 ч на воде или растворах РР: тидиазурона (10 нм), цитодефа (0,1 мкМ), кинетина (1 мкМ), рибава-экстра (10 ppm) или эпина-экстра (1 мкМ 24-эпибрассинолида), затем часть прорастающих семян оставляли в дистиллированной воде, часть переносили на растворы, содержащие ионы Cu^{2+}, Pb^{2+}, Sr^{2+}, Ni^{2+} или Zn^{2+} в концентрациях от 1 мМ до 10 мкМ. Растения выращивали в факторостатных условиях (плотность потока фотонов около 200 мкМ/($м^2$·с), фотопериод 14°ч, температура 21–23°С). Через 7 сут после начала опыта определяли активность каталазы (по снижению концентрации H_2O_2 в ферментном экстракте) в усредненных пробах, состоящих из высечек листьев с 20-30 растений. Оптическую плотность реакционной смеси регистрировали на спектрофотометре UVmini-1240 при длине волны 240 нм. Все опыты проводили трижды. Результаты обрабатывали статистически по общепринятым в биометрии формулам. Существенность различий между вариантами опыта оценивали по критерию Тьюки (при $p>0,05$).

Большинство изученных металлов повышали активность каталазы относительно водного контроля в 1,2-2,7 раза. Исключение составляли лишь ионы Ni^{2+}, которые несущественно изменяли активность фермента. Активность каталазы возрастала, или имела тенденцию к повышению, с увеличением концентрации ионов Cu^{2+}, Zn^{2+} и Sr^{2+} в среде выращивания. Наоборот, на фоне возрастания концентраций ионов Pb^{2+} и Ni^{2+}, активность каталазы имела тенденцию к снижению. При сравнении эффектов эквимолярных концентраций изученных металлов на проростки кукурузы показано увеличение активности каталазы в ряду Ni<Pb Cu<Sr <Zn.

Как правило, предобработка семян изученными регуляторами роста способствовала повышению активности каталазы или поддержанию ее на уровне водного контроля, как в присутствии, так и в отсутствии ионов ТМ. Исключением были варианты с предобработкой кинетином на фоне повышенных концентраций Zn и Pb, а также с предобработкой Рибавом-экстра на фоне Ni. Об эффективности использования того или иного РР можно судить по изменению активности каталазы относительно вариантов без ТМ. Так, на фоне Pb и Zn наименее эффективен кинетин, на фоне Ni – рибав-экстра, на фоне Cu – кинетин и тидиазурон, а на фоне Sr – цитодеф и тидиазурон. Соответственно, для повышения активности каталазы и, как следствие, для увеличения резистентности к конкретным металлам, рекомендуется предобработка семян следующими регуляторами роста: при загрязнении субстрата свинцом – эпин-экстра, никелем – тидиазурон, медью – цитодеф и рибав-экстра, стронцием – кинетин, цинком – эпин-экстра и кинетин.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России (проект № 6.783.2014К).

ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЕПОДАВАНИЯ ФИЗИОЛОГИИ И БИОХИМИИ РАСТЕНИЙ БУДУЩИМ АГРОНОМАМ

Improving the effectiveness of teaching plant physiology and plant biochemistry to future agronomists

Баяндина И.И.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Новосибирский государственный аграрный университет», Новосибирск, Россия
bayandina@ngs.ru

Для подготовки нового поколения специалистов аграрного профиля необходимо постоянное совершенствование методов обучения и контроля знаний студентов. Введение новых федеральных государственных образовательных стандартов высшего образования (бакалавриата) по специальностям Агрономия и Агрохимия и агропочвоведение создает новые сложности в преподавании физиологии и биохимии растений: резко сократилось число лекций, дисциплина изучается всего один семестр. Задача, стоящая перед современными преподавателями – заложить прочные основы фундаментальных знаний о функционировании растений, решается с помощью комплекса разнообразных приемов.

Преподавание дисциплины «Физиология и биохимия растений» ориентировано на современные образовательные технологии: модульность, обучение до результата, индивидуализация обучения. Реализация компетентностного подхода обеспечивается широким использованием активных и интерактивных форм проведения занятий. Часть лекций и практических занятий запланирована нами в интерактивной форме. На лекциях мы используем активные методы обучения, контроля знаний и посещаемости лекций. В начале или середине лекции всем присутствующим на лекции раздаются задания по теме предыдущей лекции. Ответ на задание подписывается студентом и учитывается для контроля посещаемости и усвоения материала. Практическое занятие начинается с опроса теоретического материала с помощью нумерации студентов. Для подготовки к компьютерному тестированию нами используется метод кооперативного обучения. Для обучения учебная группа студентов разбивается на группы в 3-5 человек. Каждая малая группа выполняет совместно контрольное тестирование по изучаемой теме, смотрят совместно протокол тестирования, работая над совершенными ошибками. Во время обучения используется электронный многоуровневый контроль знаний. В течение обучения студенты должны выполнить пять компьютерных тестирований по темам: биохимия растений; клетка и водный обмен; фотосинтез и дыхание; минеральное питание и рост; устойчивость растений. Компьютерное тестирование позволяет активизировать самостоятельную работу студентов, повысить ее качество и освободить время преподавателя для индивидуальной работы со студентами. Для реализации заданной цели контроля, корректного отображения содержания проверяемого материала и устранения факторов угадывания используются четыре различных формы тестовых заданий: открытая, закрытая, установления соответствия и упорядочения. Тестовые задания используются на разных уровнях контроля знаний студентов. Важным этапом изучения основных понятий физиологии и биохимии растений является раскрашивание. Для визуализации некоторых структур, процессов и схем мы используем специально подготовленные схемы. Не все любят и умеют рисовать, но почти все любят раскрашивать. Так, например, по теме «Фотосинтез и дыхание» студенты должны раскрасить следующие схемы: структуры фотосинтеза, циклический и нециклический транспорт электронов в мембране хлоропласта, цикл Кальвина, гликолиз, цикл Кребса, электрон-транспортная цепь митохондрий. Раскрашивание является прекрасным способом обучения. После выполнения этой работы у студентов остаются схемы и таблицы, которые можно использовать для подготовки к экзамену. Завершающим этапом обучения является написание эссе в виде ответа на вопрос, который предполагает творческое использование знаний по физиологии и биохимии растений. Возможность легко найти информацию по любому вопросу в интернете создает у студентов иллюзию, что они легко сдадут любую дисциплину, не прилагая больших усилий. Мы старались выбирать вопросы, ответы на которые напрямую трудно найти в интернете и дают возможность студентам творчески мыслить и активно использовать свои знания.

Таким образом, применение компьютерного тестирования, раскрашивание схем и написание эссе позволяет более качественно обучать и контролировать знания студентов по физиологии и биохимии растений.

ВЗАИМОСВЯЗЬ ИММУНОЛОКАЛИЗАЦИИ АГГЛЮТИНИНА ЗАРОДЫША ПШЕНИЦЫ, ДЕГИДРИНОВ И АБК В ОБЕСПЕЧЕНИИ ПРОТЕКАНИЯ ЭМБРИОГЕНЕЗА ПШЕНИЦЫ

Interaction of immunolocalization of wheat germ agglutinin, dehydrins and ABA in provision of wheat embryogenesis

Безрукова М.В., Шакирова Ф.М.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа, Россия; lectin@anrb.ru

Известно, что на протяжении всего онтогенеза количественный уровень агглютинина зародыша пшеницы (АЗП) в растениях претерпевает существенные флюктуации, особенно в критические фазы онтогенеза или при воздействии неблагоприятных условий произрастания. Наряду с этим, фазы развития колоса пшеницы, отличающиеся интенсивным накоплением питательных веществ в зерне, характеризуются максимальным содержанием в них АБК. В связи с этим было проведен иммуноферментный анализ содержания АБК и АЗП в ходе развития семян у засухоустойчивого сорта пшеницы Башкирская 26 и чувствительного к обезвоживанию сорта Салават Юлаев. Полученные нами данные по динамике уровня АБК и АЗП в ходе формирования зерновок продемонстрировали увеличение содержания АБК и последующее массированное накопление АЗП в зерновках сорта Башкирская 26 на ранних стадиях налива зерна, тогда как у сорта Салават Юлаев максимум в содержании АБК наблюдался лишь на 25 сутки после опыления, а уровень АЗП достигал максимального значения на поздней стадии налива зерна в зрелых семенах. Эти результаты согласуются с данными о возможной причинно-следственной связи между высоким уровнем АБК в семенах в ходе поздних стадий налива зерна и снижением урожайности зерновых во время засухи у чувствительных сортов.

В сложных преобразованиях в ходе эмбриогенеза определяющую роль играют последовательные изменения ритма и темпа митотической активности в разных областях зародыша. Известно, то ген АЗП, также как и гены многих дегидринов, является АБК-регулируемым, и к настоящему времени накопилось немало данных, указывающих на участие АЗП и дегидринов в развитии АБК-контролируемых защитных реакций растений, развиваемых в ответ на стрессовые факторы, вызывающие дефицит влаги, в том числе в условиях естественного обезвоживания семян в ходе их созревания. Методами иммуногистохимии с помощью кроличьих антител против АБК, АЗП и обязательного для всех дегидринов K-сегмента и DyLight® 633 вторичных антикроличьих антител (Agrisera, Швеция) с использованием конфокальной лазерной микроскопии нами впервые проведено комплексное исследование локализации АЗП, АБК и дегидринов в тканях зародышей пшеницы сорта Башкирская 26 в критические фазы эмбриогенеза. На 15 сутки после опыления слабо детектируемое диффузное иммуногистохимическое распределение АБК и АЗП наблюдалось в щитке зародыша, тогда как дегидрины на этой стадии эмбриогенеза не определялись. АЗП задействован в инициации деления клеток в формирующемся зародыше, в связи с чем, на 20 сутки после опыления он преимущественно детектировался в клетках основной меристемы, в которых наблюдается повышенная митотическая активность: щитке (преимущественно в области прокамбиального тяжа) и почечке (максимально на вершине колеоптиля и в точке роста побега). На противоположном полюсе зародыша, где происходит образование колеоризы, выявлена иммуноспецифическая к АБК и АЗП флуоресценция. Иммуногистохимическое распределение дегидринов на данном этапе формирования зародыша было сходным таковому лектина, однако менее интенсивным: иммунофлуоресценция наблюдалась в области прокамбиального тяжа щитка и колеоризе зародыша. К 25-м суткам после опыления у сорта Башкирская 26 продолжалась дифференциация прокамбиального тяжа, и наблюдалось заложение второго и третьего листа и адвентивных корней. В центральной части зародыша в области конуса нарастания и образования адвентивных корней, где выявляется интенсивная митотическая активность, детектировалось интенсивное иммунное окрашивание на АБК, лектин и дегидрины. В этот период щиток, эпибласт, колеориза и колеоптиль представляют собой как бы одно целое, внутри которого развивается будущий побег. Исследование иммунолокализации лектина в этих областях выявило его существенное накопление; здесь же наблюдалась максимальная локализация АБК и преимущественная дегидринов. Формирующаяся сосудистая система зародышевого корня характеризовалась иммуноокрашиванием на АБК, АЗП и дегидрины.

Таким образом, проведенный нами в критические фазы онтогенеза анализ иммунолокализации АБК, АЗП и дегидринов в тканях формирующегося зародыша пшеницы сорта Башкирская 26 выявил, что иммуногистохимическое распределение в нем АЗП и дегидринов коррелирует с локализацией АБК в тканях в исследуемые фазы эмбриогенеза. Полученные данные позволили визуализировать взаимосвязь АЗП и дегидринов в обеспечении нормального протекания эмбриогенеза и роль АБК в регуляции этого процесса.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 14-04-00731.

ФЕНОТИПИЧЕСКИЙ ОТБОР ДИКОРАСТУЩЕГО КЛЕВЕРА В ЕСТЕСТВЕННОМ ФИТОЦЕНОЗЕ

Phenotypic selection in natural wild clover biocenosis

Бекузарова С.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Северо-Кавказский научно-исследовательский институт горного и предгорного сельского хозяйства, с. Михайловское, Республика Северная Осетия – Алания, Россия; beko37@mail.ru

В создании сортов сенокосно-пастбищного направления для горных фитоценозов важное значение имеет отбор дикорастущих видов трав как исходного материала, обладающего комплексов признаков долголетия, высокой адаптации , семенной продуктивностью.

С целью создания таких сортов отбирали исходные образцы в естественных условиях гор с учетом вертикальной поясности в диапазоне высот 600-2000 м над уровнем моря. В естественных фитоценозах, где преобладают растения разнотравья и представители злаковых компонентов, бобовые культуры, в том числе и клевер луговой, под действием высокой конкуренции выпадают из травостоя. В таких жестких условиях выживают сильнейшие, наиболее приспособленные особи. Особенно жесткий отбор адаптивных форм наблюдается в горных фитоценозах. В бобово-злаковых фитоценозах горных сенокосов и пастбищ виды бобовых трав преобладают (клевер, люцерна, эспарцет и др.). При интродукции на культивируемые участки растения слабо приживаются, так как в местах потенциального развития этими видами растений накапливается в почве биологический азот. Поэтому при интродукции для лучшей приживаемости необходимо осуществлять их посадку с землей корнеобитаемого слоя. На фиксированным участках с преобладанием бобовых компонентов отбирали растения по признаку максимального количества генеративных стеблей (как минимум 3-5) с цветущими головками в количестве 10-15 штук. Такой отбор основан на высоких адаптивных свойствах выживания в сообществе с другими видами. Важным признаком. коррелирующим с зимостойкостью и долголетием является количество междоузлий, число которое у растений клевера достигает более 7-ми.

Интродуцируемые отобранные растения по фенотипическим показателя в сравнении с контролем-стандартом сорта Дарьял показали их превосходство над образцами, выделенными из культивируемых видов клевера. При оценке в коллекционном питомнике выявлены образцы, интродуцируемые из горных фитоценозов по ряду признаков: семенной продуктивности, высокой облиственности, зимостойкости, долголетия, качество кормовой массы, превышающие районированный сорт на 15-28%.

ДИАГНОСТИКА УСТОЙЧИВОСТИ СОРТОВ КИВИ К ЗАСУХЕ

Diagnostic s of drought resistance of kiwi-fruit

Белоус О.Г.[1,2], Клемешова К.В.[1]

[1] *Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт цветоводства и субтропических культур», Сочи, Россия; oksana191962@mail.ru*
[2] *Сочинский институт моды, бизнеса и права, Сочи, Россия; christa_kl@mail.ru*

Субтропические плодовые культуры чрезвычайно требовательны к условиям произрастания и весьма актуальным является поддержание и повышение их адаптационного потенциала. В связи с этим поиск анатомо-морфологических и физиолого-биохимических показателей, определяющих уровень устойчивости, способствует более глубокому пониманию природы явления и более успешной разработке диагностических методов. Однако адаптация растений к условиям существования затрагивает целый комплекс функциональных процессов. Выяснение функциональных взаимосвязей и степени их нарушения позволяет выявить различия между устойчивыми и неустойчивыми растениями. В последние годы большое распространение в мировом плодоводстве получила культура киви, или актинидия сладкая (*Actinidia deliciosa* C.F. Liang & A.R. Ferguson). В России выращивание культуры в промышленном масштабе ограничено требовательностью киви к такому абиотическому фактору, как температурный режим: сумма активных температур должна быть не ниже 3600°С; отрицательная температура в зимний период не ниже –15°С. Кроме того, *A. deliciosa* относится к влаголюбивым растениям и весьма требовательна не только к температурному режиму, но и к влажности воздуха и количеству осадков. Связано это с природными условиями центра происхождения данной культуры (Юго-Восточная Азия). Ежегодные засушливые периоды во влажных субтропиках России, приводят к угнетению не только ростовых процессов, но и снижению качественных показателей и урожайности культуры. К тому же, киви обладает рядом особенностей, вызывающих трудности при выращивании культуры в этом регионе, например, поверхностно расположенная корневая система, в результате чего растения требуют дополнительного полива.

Наши исследования показали, что при отборе листьев для сортовой диагностики культуры киви следует учитывать наличие ярусов у растений и расположение листьев по отношению к соцветиям и плодам. Так, повышенной стабильностью водного режима отличаются листья, расположенные рядом с плодами и выполняющие функции обеспечения их водой. Если засуха вызывает обезвоживание листьев в средней части побега на 6,32%, то листья, расположенные возле генеративных органов, теряют при этом только 4,01%. При этом в условиях засухи небольшое снижение оводненности листьев плодоносных побегов вызывает всего лишь незначительное возрастание водного дефицита. В то же время, наибольшей лабильностью водного режима в экстремальных условиях характеризуются листья, находящиеся либо на неплодоносном побеге, либо дальше от плодов. В исследованиях использована оценка по комплексу параметров водного режима киви. В итоге изучен водный статус растений киви и определены показатели, которые не только достаточно полно и четко описывают физиологическое состояние растений в стрессовый период, но и позволяют выявить более адаптивные для данной местности сорта. Методами, использующими выявленные нами показатели и тесно связанные с водным статусом культур, являются: определение водного дефицита листьев и установление фракционного состава воды. На основании результатов многолетних исследований была разработана шкала изменения параметров водного режима, которая позволяет дифференцировать сорта на группы разной степени засухоустойчивости. Так, при оценке сортов *A. deliciosa* по разработанной шкале устойчивости в оптимальный период вегетации руководствовались следующим. Листья устойчивых сортов в благоприятных условиях содержат воды 70–80%; «потеря завядания» у них не превышает 25%; водный дефицит не поднимается более 9%. У растений средней степени устойчивости оводненность составляет 60–70%, «потеря завядания» – не более 35% и параметры водного дефицита не поднимаются выше 15%. Образцы, содержание воды в которых составляет менее 60%, потеря воды за 12 ч составляет более 40% и водный дефицит выше 10%, являются неустойчивыми. При наступлении стрессового периода (в климатической зоне влажных субтропиков России это июль – август), у наиболее устойчивых сортов *A. deliciosa*снижение оводненности не превышает 5%; водный дефицит не поднимается выше 6% и значительно увеличивается содержание каротиноидов – на 25-30%. У слабо устойчивых сортов снижение содержания воды составляет 5-8%; возрастание водного дефицита: 7-9% и изменение каротиноидов – не более 25%. У неустойчивых сортов снижение оводненности и возрастание водного дефицита составляет более 10%; при практически, неизменном количестве каротиноидов – менее 20%.

Таким образом, наиболее устойчивым в зоне влажных субтропиков России является сорт Монти, неустойчивым – сорт Хейворд. При этом необходимо учитывать разные сроки созревания плодов, что значительно влияет на устойчивость сорта. Усортовразного срока созревания при попадании их в одинаковые по фенодатам стрессовые условия, плоды хорошего товарного качества, оказываются менее устойчивыми, следовательно, более затратными при создании для них благоприятных условий выращивания (например, полива).

АДАПТИВНОСТЬ КУЛЬТУРЫ ФУНДУКА В УСЛОВИЯХ ВЛАЖНЫХ СУБТРОПИКОВ РОССИИ

Белоус О.Г.[1,2], Кожевникова А.М.[1]

Adaptability of filbert under conditions of humid subtropics in Russia

[1] *Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт цветоводства и субтропических культур», Сочи, Россия; oksana191962@mail.ru*
Сочинский институт моды, бизнеса и права, Сочи, Россия; subplod@mail.ru

Культура фундука *(Coryluspontica* C.Koch) является перспективной промышленной культурой влажных субтропиков Черноморского побережья России. Ограниченность земельных ресурсов субтропического земледелия обусловила необходимость возделывания фундука на менее плодородных почвах, крутых склонах, что сформировало мнение о том, что культура менее требовательная к почвенно-климатическим ресурсам. Однако практика возделывания фундука показала, что стабильно высокие урожаи ореха в регионе можно получить только в оптимальных условиях с использованием новых устойчивых сортов. В этой связи комплексное изучение физиологических особенностей этих растений в сортовом разрезе, в частности, касающихся их адаптивного потенциала, является актуальной.

Для оценки экологической пластичности сортов фундука нами выявлены генотип-средовые эффекты по уровню значимости и корреляции между изучаемыми признаками. Так, у растений сорта Президент выявлено наибольшее значение коэффициента линейной регрессии в отношении и к температурному фактору (2,03 по каталазе и 15,05 по каротиноидам) и по отношению к количеству осадков (69,54 и 28,80, соответственно). В то же время, менее пластичным является сорт Черкесский-2, физиологические показатели достаточно стабильны по годам, о чем можно судить по степени стабильности (дисперсии). Следовательно, можно рекомендовать сорт Президент, как наиболее устойчивый и экологически пластичный. Однако, для достижения максимальной отдачи он требует хорошего агроухода, как, впрочем, и культура в целом, судя по коэффициентам линейной регрессии значительно превышающем единицу. Помимо показателей, связанных с адаптивностью и качеством орехов, не менее важным является вопрос продуктивности растений. Просчет экологической пластичности сортов, с учетом урожайности культуры, показал, что более пластичен сорт Черкесский-2, отличающийся хорошей урожайностью вне зависимости от гидротермических условий вегетации, и это дает возможность рекомендовать данный сорт, если при возделывании культуры ставится цель только получение стабильных урожаев, без учета адаптивности и качества орехов.

На основе экспериментальных данных просчитаны коэффициенты парной корреляции между природно-климатическими факторами и используемыми физиологическими показателями. Результатом явился подбор физиолого-биохимических показателей, предлагаемых для оценки адаптивности, и вошедших в основу методических рекомендаций по диагностике функционального состояния фундука. Показано, что все физиологические показатели, характеризующие культуру, тесно связаны не только друг с другом, но и с воздействием гидротермических факторов. Причем зависимость между температурой и физиологическими показателями выше средней или высокая, тесная корреляция отмечена между температурой и суммой каротиноидов ($r = 0,98$). Однако повышение температуры вызывает снижение синтеза хлорофиллов ($r = -0,73$) и показателей, связанных с водным режимом: оводненности ($r = -0,81$), водоудерживающей способности ($r = -0,83$) и количества свободной воды ($r = -0,78$). В то же время, практически нет корреляции между количеством осадков и такими показателями, как содержание хлорофилла и активностью каталазы.

При проведении корреляционного анализа учитывались не только абиотические стрессоры, но и продукционный процесс, что позволило рассчитать регрессионные модели: $Y = 10,69 + 2,07 \cdot F1 + 0,081 \cdot F2$, $R^2 = 0, 36$ (оводненность); $Y = 2,67 + 1,41 \cdot F1 + 0,15 \cdot F2$, $R2 = 0,18$ (водоудерживающая способность); $Y = 0,01 + 0,02 \cdot F1 + 0,13F2$, $R2 = 0,20$ (содержание каротиноидов); $Y = 2,06 + 0,03 \cdot F1 + 0,07 \cdot F2$, $R^2 = 0,40$ (содержание хлорофиллов), где F1 - температура воздуха, °С; F2 - количество осадков, мм.

По результатам кластерного анализа были разбиты на классы, наглядно демонстрирующие их адаптивный потенциал, такие сорта фундука, как Черкесский-2, Ломбардский красный, Президент и Футкурами. Сорта Черкесский-2, Президент и Футкурами образуют группу, сходную по устойчивости к стресс-факторам, в то время как сорт Ломбардский красный по степени адаптивности резко отличается от остальных. В то же время, рассматривая объединенную группу сортов внутри этого кластера можно выделить сорт Президент, несколько отличающийся по своему адаптивному потенциалу от сортов Черкесский-2 и Футкурами.

Таким образом, проведенные исследования показали, что с устойчивостью растений фундука к неблагоприятным гидротермическим факторам тесно коррелируют именно такие физиолого-биохимические показатели как сумма каротиноидов, оводненность и водоудерживающая способность листовых тканей, что нашло отражение в разработке методических рекомендаций по диагностике фундука к стресс-факторам.

СОРТОВАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ КУЛЬТУРЫ ЧАЯ В РАЗЛИЧНЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ ЧЕРНОМОРСКОГО ПОБЕРЕЖЬЯ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ

Белоус О.Г.[1,2], Притула З.В.[1]

Resistance of tea varieties under different ecological conditions of the Black Sea coast in Krasnodar Region

[1] *Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт цветоводства и субтропических культур», Сочи, Россия; oksana191962@mail.ru*
[2] *Сочинский институт моды, бизнеса и права, Сочи, Россия; subplod@mail.ru*

Изучение водного статуса культуры чая позволило выделить ряд физиолого-биохимических параметров, тесно связанных с особенностями водообмена и использовать их для разработки диагностической шкалы: в оптимальный период листья устойчивых сортов содержат воды 50% и выше, водный дефицит в них не превышает 10%, водоудерживающая способность тканей от 20% до 25%. У менее устойчивых сортов оводненность тканей листа составляет 40-50%, водный дефицит – 10-15%, а потеря воды тканями не более 25-40%. У неустойчивых растений эти параметры даже в нормальных условиях изменяются значительнее. Содержание воды в тканях листа – менее 40%, водный дефицит – выше 15%, потеря воды высокая – более 40%. В неблагоприятныйпериод у наиболее устойчивых к засухе сортов чая оводненность падает не ниже 50-60%, т.е. в процессе завядания листья теряют не более 10% воды, и водный дефицит у них возрастает не более чем на 10%. У растений средней устойчивости оводненность снижается до 20-30%, водный дефицит возрастает на 15-25%, а концентрация клеточного сока повышается до 15-18%. Наибольшие изменения происходят у неустойчивых растений. Оводненность менее 20%, водный дефицит листьев более 40%, водопотеря составляет 50% от исходного, и ККС более 18%.

Условия произрастания, как и сортовые особенности, оказывают влияние на состояние пигментной системы чая. Значительное накопление хлорофилла*a* в листьях характерно для сорта Каратум, близок к нему сорт Сочи. Меньше всего содержится хлорофилла*a* в сорте Колхида. Хлорофилла *b* больше накапливается сортом Каратум и Сочи, меньше – Колхидой. У всех изученных сортов соотношение *a/b* находится в пределах от 1,75 мг/г до 2,50 мг/г. По соотношению суммы хлорофиллов к каротиноидам выделяются сорта Кимынь и Сочи, являющиеся достаточно устойчивыми, в листьях этих сортов соотношение суммы хлорофиллов к каротиноидам в 1,8-2,2 раза меньше, чем в Колхиде. Таким образом, по всем физиологическим показателям сорт Колхида уступает остальным. Выявлено, что на участках с оптимальными для чая почвенными условиями, характеризуемых высоким бонитетом, различия в содержании фотосинтетических пигментов незначительны. Но большее значение имеют гидротермические условия, которые на каждом микроучастке своеобразны. На склонах южной экспозиции, имеющих больший уклон в градусах (от 15° до 20°, при 5-7° на остальных), выше солнечная инсоляция (до 50 100 Лк) и ниже влажность воздуха (около 68,7% при 72-81% на остальных участках). Участки сильнее прогреваются, растения на них сильнее ощущают водный дефицит. Этим объясняется большая лабильность в содержании каротиноидов. При оптимальных почвенных условиях, это стимулирует адаптивные способности растений, не вызывая заметного угнетения чайных кустов (подтверждается высокой урожайностью данных плантаций).

Активность каталазыв листьях наименьшая в июле, характеризующемся высокими температурами и максимальной освещенностью. Во флешах чая максимум ферментативной активности приходился на июль (от 52 до 74 мл O_2/г), а спад ее (до 39-33 мл O_2/г) отмечался в августе. В этот период активность каталазы в среднем в 2,1-3,0 раза ниже, чем в зрелых листьях. При ослаблении жары активность фермента максимальна, в дальнейшем наблюдается еще один спад активности. Это период физиологического старения листа, и период активной репродуктивной деятельности, сопровождаемой формированием корневой системы, что предполагает отток веществ к этим органам и усиление физиологических процессов в соответствующих клеточных структурах. Влияние возраста листа на активность фермента следующая: наибольшая активность наблюдается в 1-4 листе после, так называемого, «рыбьего». У более старых листьев наступает потеря активности каталазы, связанная с замедлением обменных процессов и понижением интенсивности дыхания. Существенное влияние на активность фермента оказывают условия произрастания. На открытых солнечных южных и юго-восточных склонах (освещенность – 50 кЛк), где ощущалось действие фёнов, температурный режим жестче (до 31,2°С), влажность воздуха ниже (68%), и у всех растений отмечался значительный всплеск ферментативной активности (до 115,1-148 мл O_2/г). При усилении действия стрессоров, существенно снижалась ферментативная деятельность (до 62-107,5 мл O_2/г), что объясняется угнетением чайных растений, вызванным действием, как засухи, так и высокой температурой. На северных склонах солнечная инсоляция выражена в меньшей степени (39 кЛк), температурный режим мягче (26,2°С), растения не ощущают угнетения, что проявилось в более стабильной активности каталазы на протяжении всего вегетационного периода.

Нами просчитаны коэффициенты парной корреляции между природно-климатическими факторами и физиологическими показателями; определеныфизиолого-биохимические показатели для оценки адаптивности и разработаныметодические рекомендаций по диагностике функционального состояния растений чая.

РАЗМНОЖЕНИЕ РАСТЕНИЙ ЖИМОЛОСТИ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

Reproduction of honeysuckle *in vitro*

Беляева Е.А.[1,2], **Агеева М.Н.**[1,2], **Брилкина А.А.**[1], **Веселов А.П.**[1], **Смирнов А.С.**[2]

[1] *Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия*
[2] *Закрытое акционерное общество, производственное объединение «Гамми» (ЗАО ПО «Гамми»), Нижний Новгород, Россия; drugaya2009@yandex.ru*

Жимолость является одной из ценных нетрадиционных ягодных культур, возделываемой в Нижегородской области. Основными ее достоинствами являются раннее созревание и богатство микроэлементами и антиоксидантами. Для микроразмножения растений жимолости, чаще всего, используют среды Мурасиге-Скуга (МС) и Ли и де Фоссарда (ЛФ). Но на среде МС некоторые сорта жимолости образуют удлиненные и тонкие междоузлия, что негативно сказывается на их укоренении, а на среде ЛФ часто наблюдается хлороз. Чтобы избежать отмеченных нежелательных явлений используют чередование этих сред, но для производственного процесса наиболее удобным вариантом работы является использование одной универсальной среды. Поэтому целью нашего исследования стала разработка универсальной среды для микроклонального размножения жимолости.

Чтобы определить применимость разрабатываемой нами среды для выращивания жимолости *in vitro*, нами было использовано три сорта жимолости: Нижегородская ранняя, Голубое веретено и Бакчарская. Их вводили в асептическую культуру почками, используя ступенчатую стерилизацию: мыльный раствор (15 мин), 80% спирт (1 мин), 15% раствор белизны гель-концентрата (5 мин), 5% перекись водорода (5 мин) и далее 2 раза промывали в дистиллированной автоклавированной воде. С почки счищали верхние чешуи, и эксплант переносили на питательную среду МС с добавлением 1,5 мг/л БАП. Полученные микрорастения жимолости культивировали при 4000 Лк и температуре 24°С, время пассажа составляло 8 недель, на 3 разных средах, с одинаковым количеством гормонов 1,5 мг/л БАП: МС, ЛФ и разрабатываемой нами среде, в которой, в сравнении с двумя другими используемыми, было изменено количество основных солей. Для оценки эффективности среды сравнивали среднюю длину растений и коэффициент размножения, равный количеству растений, полученных из 1 экспланта.

В течение первых 4 недель на всех исследуемых средах прирост составил в среднем 0,5 см, активного роста и появления новых побегов у растений жимолости отмечено не было. На 5 неделе наблюдалось увеличение длины эксплантов более чем на 1см и образование новых побегов. Для сорта Нижегородская ранняя средняя длина эксплантов на среде МС была 2,9см, на разрабатываемой среде 2,8 см. Средняя длина растений сорта Голубое веретено на среде ЛФ 2,2 см, что на 0,5 см больше, чем на других средах для этого сорта. Растения сорта Бакчарская на всех средах имели одинаковую среднюю длину 1,5 см.

Дальнейшие наблюдения показали, что после 6-й недели культивирования коэффициент размножения в некоторых случаях повышался. Так, для сорта Нижегородская ранняя была выявлена тенденция к образованию большого количества новых побегов с увеличением времени культивирования на среде МС и разрабатываемой среде. На среде ЛФ для этого сорта зафиксирован обратный эффект: коэффициент размножения значительно падал, многие растения погибали. Для сорта Голубое веретено наиболее благоприятными условиями выращивания по коэффициенту размножения были разрабатываемая среда и ЛФ, а для Бакчарской – только среда МС. Длительное культивирование сказывалось и на средних размерах растений. К 8 неделе микроразмножения, было замечено, что растения на всех средах снижают темпы роста и размножения, истончаются и начинают гибнуть.

Полученные данные позволяют полагать, что увеличение времени культивирования больше 6 недель может приводить к повышению коэффициента размножения для некоторых сортов, в зависимости от используемой среды, однако, культивирование более 8 недель неблагоприятно сказывается на состоянии растений.

Увеличение коэффициента размножения и значительные размеры эксплантов для сорта Нижегородская ранняя, выращенной на разрабатываемой среде, показали эффективность новой среды и применимость для культивирования растений жимолости. Удовлетворительные результаты для сортов Голубое веретено и Бакчарская, выращенные на этой же среде, свидетельствуют о необходимости дальнейшего совершенствования разрабатываемой среды.

Работа поддержана грантом (соглашение от 27 августа 2013 г. № 02.B.49.21.0003 между МОН РФ и ННГУ им. Н. И. Лобачевского).

ШИРОТНАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ХВОИ КЕДРА СИБИРСКОГО *EX SITU*

Latitudinal variability of structural and functional Siberian stone pine needle features *ex situ*

Бендер О.Г., Зотикова А.П.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт мониторинга климатических и экологических систем Сибирского отделение Российской академии наук, Томск, Россия; obender65@mail.ru

Кедр сибирский (*Pinus sibirica* Du Tour.) обладает огромным ареалом распространения. Благодаря высокой экологической пластичности кедр приспособился к экстремальным условиям гор, болот и высоких широт. Климатические особенности местопроизрастания кедра вызывают адаптивные перестройки всего растительного организма, особенно его ассимиляционного аппарата, которые проявляются в определенных структурно-функциональных признаках. Реакцию растений на климатические изменения можно смоделировать при выращивании различных экотипов сосны сибирской кедровой в географических плантациях.

Целью настоящей работы явилось выявление структурно-функциональных особенностей хвои кедра сибирского взятых с крайних точек ареала и выращенных в условиях юга Западной Сибири. Материал был собран на географической прививочной плантации, заложенной в 30 км к югу от Томска (юго-восток Западно-Сибирской равнины, крайний юг таежной зоны). Объектом исследования служили привои кедра сибирского, выполненные черенками с маточных деревьев из естественных насаждений кедра. Для исследований были отобраны два экотипа из крайних точек произрастания: северный – Уренгой, южный – Томский экотип был взят для сравнения как местный из оптимума произрастания. Местный, Томский экотип произрастает в среде обитания, которая представляет собой некую экологическую точку, от которой естественные условия произрастания ухудшаются на север в связи с общим понижением запасов тепла и увеличения коэффициента увлажнения. Было проанализировано 9 структурно-функциональных показателей, которые разбили на три группы. Значения показателей первой группы зависели от интенсивности роста в процессе формирования ассимиляционного аппарата: длина хвои, площадь мезофилла, площадь клетки мезофилла, число клеток мезофилла. Показатели второй группы играли важную роль в адаптации к условиям произрастания: площадь смоляных каналов, толщина эпидермы, устьичная плотность. Функциональные параметры входящие в третью группу характеризовали физиологическое состояние организма: содержание фотосинтетических пигментов, интенсивность фотосинтеза.

Исследовали изменчивость 9 морфо-анатомических показателей хвои. Исследования показали, что южный экотип имел достоверно выше значения показателей характеризующие ростовые процессы: длины хвои на 28%, площади поперечного среза на 21%, мезофилла на 29%, клетки мезофилла на 27%. Исключением является количество клеток мезофилла на поперечном срезе хвои, которое было одинаковым у южного и северного экотипов. Это говорит о том, что процессы деления клеток мезофилла идут с одинаковой скоростью у изучаемых экотипов, в то время как процесс растяжения проходит более интенсивно у южного экотипа. Возможно, более короткая и тонкая хвоя северного экотипа обусловлена генетически и является результатом раннего прекращения роста органа, т.к. известно, что рост и развитие растений проходит более высокими темпами в условиях короткого вегетационного периода севера. Несколько другая картина наблюдается при анализе характеристик играющих важную роль в адаптации. Так площадь смоляных каналов практически не отличается между двумя экотипами, в то время как в естественных условиях произрастания хвоя северных растений характеризуется большими смоляными ходами. Северный экотип характеризовался более высокими значениями устьичной плотности и толщины эпидермы.

Исследования функциональных характеристик хвои различных экотипов показали, что южный экотип кедра характеризовался максимальными значениями интенсивности CO_2-газообмена (5,47 мг CO_2/(г·ч)) и превышал аналогичный показатель северного экотипа (3.69 мг CO_2/(г·ч)). Максимальная интенсивность транспирации была отмечена у северного экотипа – 379,7 мг H_2O/(г·ч). Южный экотип имел более низкие значения транспирации – 358,0 мг H_2O/(г·ч). Анализ содержания фотосинтетических пигментов показал, что северный экотип имел более низкое содержание хлорофиллов, что свидетельствует о генетически закрепленной низкой скорости их синтеза.

Таким образом, изучение структуры хвои привоев различного географического происхождения в одинаковых условиях прививочной плантации показало, что морфо-анатомические и функциональные показатели хвои, специфичны для каждого экотипа. Это дает возможность предполагать, что характер изменчивости структуры хвои связан с географическим происхождением привоев, то есть обусловлен наследственно-адаптационными особенностями маточных деревьев. Новые знания о структурно-функциональной организации ассимиляционного аппарата у географических экотипов открывают дополнительные возможности для прогнозирования и моделирования реакций лесных древесных растений на изменения климата.

ВЛИЯНИЕ КИНЕТИНА И ЭПИБРАССИНОЛИДА НА ПРОЦЕССЫ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ РАЗНЫХ ГАЗОВЫХ СРЕД (ГИПОКСИЯ, CO_2 – СРЕДА)

Impact of kinetin and epibrassinolide on plant peroxidation processes under different gas media (hypoxia, CO_2-media)

Бердникова О.С., Ершова А.Н.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Воронежский государственный педагогический университет, Воронеж, Россия
aershova@vspu.ac.ru

В условиях гипоксического стресса в клетках растений усиливаются процессы перекисного окисления липидов мембран, что приводит к возрастанию процессов свободнорадикального окисления (СРО), накоплению реакционно активных форм кислорода (АФК) и изменению активности антиоксидантных ферментов. Устойчивость организмов к неблагоприятным внешним воздействиям обеспечивается различными системами регуляции, включая и гормональную. Фитогормоны играют важную роль в защите растений от влияния различных стрессовых факторов, обладают высокой биологической активностью и участвуют в процессах регуляции роста и развития растений. Обнаружено, что фитогормоны влияют на активность антиоксидантных ферментов, снижая количество свободных радикалов. Ранее было показано, что фитогормоны кинетин и эпибрассинолид (ЭБ) стабилизировали содержание и жирнокислотный состав фосфолипидов мембран, повышая степень устойчивости растений к действию различных стрессоров, включая условия кратковременной гипоксии.

Регуляторы роста кинетин и эпибрассинолид (10 мг/л), вводили в надземную часть проростков гороха и сои методом насасывания с транспирационным током в течение 12 часов в темновых условиях, после чего растения переносили в условия разных газовых сред на 3-24 часа (Землянухин и др., 1984). Исследовали интенсивность процессов СРО (Владимиров, 2009) по скорости накопления свободных радикалов в тканевых гомогенатах растений и продукцию АФК (супероксидного анион-радикала и пероксида водорода). Используя метод железо-индуцированной хемилюминесценции, отмечали быструю вспышку свечения (I_{max}) и показатель светосуммы (S). Продукцию супероксидного анион-радикала в тканях оценивали по методике (Часов, 2000), пероксида водорода – с использованием пероксидазы и о-дианизидина и рассчитывали на мг белка.

Было показано, что в тканях растений гороха, неустойчивых к гипоксии, в первые часы опыта не происходило повышение интенсивности СРО. К 6 часам I_{max} возрастало на 6% у растений при гипоксии и на 14% в условиях CO_2-среды. Только к 24 ч наблюдалось значительное усиление процессов СРО при гипоксии на 45%, в CO_2-среде на 60%. Обработка проростков гороха кинетином несколько снизила скорость СРО в первые часы опыта, но в большей степени это проявилось при действии высоких концентраций на растения CO_2-среды. Обработка ЭБ значительно не повлияла на I_{max} в течение всего времени опыта, лишь к 6 ч действия газовых сред ЭБ снизил показатели СРО на 10% в гипоксии и на 40% в условиях CO_2-среды. Обработка ЭБ также привела к снижению скорости СРО, но только к концу опыта. У более устойчивых растениях сои в первые часы опыта интенсивность СРО в условиях гипоксии и CO_2-среде была ниже уровня контрольных аэрируемых растений на 50-70%. Значительное повышение интенсивности процессов СРО наблюдали только к 6 ч действия газовых сред. Особенно значительно данный процесс происходил при действии CO_2-среды, превышая контроль в 3,5 раза. К концу опыта интенсивность скорости СРО вновь снижалась, достигая в гипоксии уровня контроля, а в CO_2-среде превышая его лишь на 60%. Обработка кинетином через 6 ч привела к снижению показателей СРО в CO_2-среде на 70%. Отмечено и изменение содержания АФК в растениях в условиях гипоксического стресса. Через 6 ч действия гипоксии на проростки гороха содержание супероксида, одной из короткоживущих форм АФК, возросло на 60%, а к концу опыта – почти в 2 раза, по отношению к контрольным растениям. При действии CO_2-среды происходило еще большее накопление супероксида. При обработке кинетином в клетках неустойчивых проростков гороха, помещенных в условия как гипоксии, так и CO_2-среды, содержание супероксида лишь к концу опыта превышало его на 20-30%. Предобработка ЭБ снижала уровень супероксида только в первые 3-6 ч действия гипоксии и CO_2-среды. Содержание пероксида водорода, наиболее долгоживущей формы АФК, в растениях гороха при действии гипоксии возрастало в 1,5-2 раза к 24 ч. В условиях CO_2-среды это накопление было значительным (до 400%). Для более устойчивых проростков сои накопление данной формы АФК было менее характерно и наблюдалось только в первые 6 ч опыта. Предобработка кинетином и ЭБ стабилизировала уровень пероксида водорода как в клетках растений сои, так и гороха, находящихся в условиях дефицита кислорода.

Наши исследования показали, что фитогормоны кинетин и эпибрассинолид в условиях дефицита кислорода в клетках проростков гороха и сои снижали скорость образования различных типов АФК и интенсивность процессов свободнорадикального окисления, включая и жирные кислоты липидов, что способствовало стабилизизации фосфолипидных компонентов мембран и повышению устойчивости растений к гипоксии и CO_2-среде.

ВЛИЯНИЕ ВВЕДЕНИЯ МИЦЕЛИЯ И КУЛЬТУРАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ МИКРОМИЦЕТОВ В ПИТАТЕЛЬНУЮ СРЕДУ НА УРОВЕНЬ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В КАЛЛУСАХ КЛЮКВЫ

Effect of nutrient medium supplementation with micromycetes mycelium and culture broth on cranberry calluses phenolic compounds accumulation

Березина Е.В., Патунина А.С., Гаранина Ю.Д., Брилкина А.А., Стручкова И.В., Синицына Ю.В., Веселов А.П.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород, Россия
berezina.kat@gmail.com

Одним из способов увеличения синтеза растительных вторичных метаболитов в культуре *in vitro* является использование элиситоров как компонентов питательной среды. Среди используемых в биотехнологии растений элиситоров наиболее эффективными признаны грибные препараты. Цель настоящей работы – выявить влияние мицелия или культуральной жидкости микромицетов на накопление фенольных соединений в каллусных культурах клюквы.

Объектом исследования являлись каллусы клюквы болотной (*Oxycoccus palustris* Pers.,) и крупноплодной (*O. macrocarpus* (Ait.) Pers., сорта Ранний черный, Стивенс, Ховес). Каллусы культивировали на свету на питательной среде Андерсона с фитогормонами НУК/кинетин (0,5/0,5 мг/л); длительность пассажа – 5 недель. В качестве элиситоров использовали сухой мицелий *Trichoderma virens* и *Alternaria alternata* (50, 500 или 5000 мг/л) и культуральную жидкость (КЖ; 5, 50 или 500 мл/л). Контрольным вариантом послужили каллусы, выросшие в отсутствие элиситоров. В 80% этанольных вытяжках из каллусов определяли содержание суммы растворимых фенольных соединений (СРФС), флавоноидов, катехинов и процианидинов (на спектрофотометре UV-1700 (Shimadzu)). Также рассчитывали оводненность каллусной ткани и индекс роста по сырой и сухой биомассе.

Результаты первого пассажа показали, что при добавлении в питательную среду мицелия или культуральной жидкости выраженного стимулирующего влияния на биосинтез полифенолов не было. Для каллусов клюквы крупноплодной отмечена тенденция к увеличению накопления флавоноидов (и, в частности, катехинов) при добавлении в среду в малых количествах КЖ *T. virens.* Высокие концентрации добавок приводили к снижению содержания исследуемых метаболитов. При этом отметим, что добавление элиситоров в малых концентрациях, как правило, приводило к повышению прироста биомассы каллусных культур, не связанного с увеличением их оводненности.

Еженедельная регистрация уровня фенольных соединений в течение первого пассажа для каллусов клюквы болотной позволила выявить период максимального накопления полифенолов: до 3 недели при добавлении КЖ *T. virens* или *A. alternata*; до 4 недели в присутствии сухого мицелия *A. alternata*. Наиболее выраженное стимулирующее влияние отмечено для мицелия *A. alternata* (50 мг/л) на 4 неделе, когда содержание СРФС составило 21 мг/г сырой массы, а в контрольном варианте – всего лишь 9 мг/г. На 5 неделе содержание полифенолов в вариантах с добавками стабилизировалось либо снизилось по сравнению с 4 неделей. Вероятно, поэтому для остальных каллусов на первом пассаже не было отмечено стимулирующего эффекта присутствия мицелия или КЖ в среде, т.к. уровень полифенолов регистрировался только через 5 недель.

По окончании второго пассажа уровень СРФС, флавоноидов и катехинов, в целом, не изменился, однако для некоторых вариантов культивирования обнаружено значительное изменение в количестве отдельных групп вторичных метаболитов. В частности, уровень процианидинов возрос (до 4,5 раз) по сравнению с предыдущим пассажем во всех культурах клюквы крупноплодной (но не болотной), подвергшихся обработке элиситорами. Причиной этому может быть нестабильность вторичного синтеза каллусных культур, длительность элиситирующего воздействия (что в случае одних вариантов ведет к привыканию и снижению продукции метаболитов с защитными свойствами, а в случае других вариантов – наоборот, к интенсификации биосинтетических процессов) либо их сочетанное действие. Вопрос о влиянии длительного культивирования каллусов на питательных средах с препаратами микромицетов на биосинтез полифенолов остается открытым и требует дальнейшего изучения.

Работа поддержана грантом (соглашение от 27 августа 2013 г. № 02.B.49.21.0003 между МОН РФ и ННГУ им. Н. И. Лобачевского).

АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ ФИТОГОРМОНОВ В ПРОРОСТКАХ ЯЧМЕНЯ ПОСЛЕ ГАММА-ОБЛУЧЕНИЯ СЕМЯН СТИМУЛИРУЮЩИМИ ДОЗАМИ

Analysis of the phytohormones content in barley seedlings after gamma irradiation of seeds in stimulating doses

Битаришвили С.В., Волкова П.Ю., Гераськин С.А.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии», Обнинск, Россия; bitarishvili.s@gmail.com

В условиях роста антропогенной нагрузки живые организмы постоянно подвергаются влиянию различных техногенных факторов, приводящих к хроническому стрессу или гибели организма, в зависимости от интенсивности фактора. Во второй половине XX века развитие радиационных технологий и ядерных вооружений привело к тому, что радиационное воздействие в дозах, превышающих естественный радиационный фон, стало играть значимую роль как экологический фактор. Однако при этом радиационные технологии успешно применяются в сельском хозяйстве и медицине. Так, в диапазоне малых доз наблюдается явление радиационного гормезиса, представляющего собой стимулирующий эффект небольших доз ионизирующего излучения. Эффект гормезиса был продемонстрирован в том числе в растениеводстве при предпосевном облучении семян. В этом случае ионизирующее излучение стимулирует прорастание и увеличение процента всхожести семян. Большое количество работ, посвященных этой теме, позволяет однозначно говорить о существовании эффекта радиационного гормезиса, однако существует проблема его невоспроизводимости в полевых экспериментах. Этот вопрос является одним из ключевых в радиобиологии. Изучение механизма радиационного гормезиса важно для понимания механизмов адаптивных реакций растений и для обеспечения устойчивого воспроизведения эффекта для нужд сельского хозяйства. Наряду с морфогенетическими процессами, адаптивные реакции также регулируются фитогормонами, которые являются основными эндогенными сигнальными молекулами растений.

Основным механизмом регуляции прорастания семян является антагонистическое взаимодействие между двумя фитогормонами: абсцизовой кислотой и гиббереллинами. Абсцизовая кислота индуцирует накопление запасных веществ в семенах растений, обезвоживание семян на поздних стадиях эмбриогенеза и переход к состоянию покоя. Гиббереллины, напротив, вызывают прорастание путем гиббереллинзависимой активации гидролитических ферментов в алейроновом слое семени. Только определенный баланс этих фитогормонов приводит к прорастанию семени. При воздействии на семя внешним агентом баланс фитогормонов меняется, что может привести задержке прорастания и даже гибели, или, в случае стимуляции, к увеличению энергии прорастания и процента всхожести семян. Исследования фитогормонального статуса в динамике прорастания семян ячменя после гамма-облучения в стимулирующих дозах помогут более точно понять механизм радиационного гормезиса и, как следствие, приблизить нас к решению проблемы невоспроизводимости эффекта путем корректировки условий облучения.

Для исследования используются проростки ячменя сорта Нур. Предварительно сухие семена облучаются в дозах от 2 до 50 Гр., спустя сутки высеваются рулонным методом с дистиллированной водой и помещаются в термостат с температурой 20°С. Концентрации фитогормонов определяются у проростков со 2 по 7 день. Пробоподготовка включает фиксацию растительного материала метанолом, гомогенизацию, соникацию, очистку от примесей, твердофазную экстракцию, концентрирование. Качественный и количественный анализ фитогормонов проводится методом ультравысокоэффективной жидкостной хроматоргафии (УВЭЖХ). Разделение осуществляется на обращено-фазовой колонке С-18 (2,2 мкм, 100 мм длина, 3,0 мм диаметр). В качестве растворителей при градиентном элюировании используется метанол и 0,1% водный раствор уксусной кислоты. Диодно-матричный детектор позволяет анализировать результаты хроматографирования на разных рабочих длинах волн, в случае исследуемых фитогормонов это 254 нм, 260 нм, 270 нм и 220 нм для мониторинга чистоты растворителя. Разработанная методика позволяет определять 4 основных класса фитогормонов (ауксины, цитокинины, гиббереллины, абсцизовую кислоту) в одном образце.

ТОЛЕРАНТНОСТЬ ЗЛАКОВ К АЛЮМИНИЮ АССОЦИИРОВАНА С ИХ ЖЕЛЕЗОЭФФЕКТИВНОСТЬЮ

Aluminum-tolerance in cereal seedlings is associated with iron-efficiency

Битюцкий Н.П., Давидовская Е.Н., Якконен К.Л.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия
bityutskii@mail.ru

Токсичность алюминия (Al), особенно катиона Al^{3+}, – один из ключевых факторов, лимитирующих рост и развитие растений на кислых почвах (pH < 5,5), занимающих около 30% территории суши, не занятой ледниками (Uexküll, Mutert, 1995). Кислые почвы характеризуются высокой мобильностью соединений не только Al, но и железа (Fe). Однако избыток Al способен подавлять поглощение Fe растениями и даже вызывать у них типичные симптомы Fe-дефицита (Clark et al., 1981; Furlany, Clark, 1981; Foy, Fleming, 1982). В связи с этим мы впервые предположили, что Al-толерантность растений может быть ассоциирована с их Fe-эффективностью, т.е. эффективностью поглощения Fe корнями и/или транспорта Fe из корней в побег. Цель настоящей работы – проверка этой гипотезы.

В условиях гидропоники изучали влияние алюминия (0,72 мМ $AlCl_3$) в разных комбинациях с железом (+Fe-ЭДТА, 40 мкМ; -Fe-ЭДТА) на показатели роста (длина корня, сухая масса корней и побегов), а также содержание Fe, цинка (Zn) и марганца (Mn) в корнях и побегах яровой и озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), озимой ржи (*Secale cereale* L.), ячменя (*Hordeum vulgare* L.) и овса (*Avena sativa* L.). Предварительно установили, что злаки отобранных видов отличались по эффективности поглощения Fe в условиях недостатка этого микроэлемента в почве, возникающих при избытке карбоната кальция (модель карбонатных почв). Группа относительно неустойчивых к Fe-дефициту растений включала пшеницу (озимую и яровую) и рожь, тогда как группа относительно устойчивых растений – овес, ячмень. Первая группа (Fe-неэффективные виды) реагировала на избыток карбоната кальция существенным ослаблением роста и снижением содержания железа в побегах. У представителей Fe-эффективной группы (овса и ячменя) эти показатели мало изменялись под воздействием избытка карбоната кальция.

В качестве дополнительного показателя Fe-эффективности злаков использовали ацидофицирующую способность щитка зародыша (Bityutskii, 2007; Bityutskii, Davidovskaya, 2008). Изолированные от эндосперма проростки, выращенные на растворах без Fe или с Fe-ЭДТА по описанной выше методике, помещали по 3 шт. дорсальной стороной щитков в крышки от чашек Петри диаметром 25 мм. В каждую крышку добавляли по 4 мл водного раствора KCl (0,05 М). Контакт растущих осевых органов с раствором KCl исключали благодаря использованию пластиковых пластинок с прорезями, в которые были вставлены щитки проростков. Проростки инкубировали в темноте при 28°C в течение 3 ч. По окончании инкубации измеряли pH среды с помощью pH-метра. Ацидофицирующую способность щитков рассчитывали по величине pH: разности между значениями pH растворов в вариантах (–Fe) и (+Fe), достоверно различавшихся между собой при $P < 0,05$. Ранее было показано, что с увеличением секреции щитками кислых продуктов (с уменьшением pH) усиливались мобилизация Fe из эндосперма и поступление этого микроэлемента в растущие осевые органы злаков (Bityutskii et al., 2004; Bityutskii, 2007). Самая высокая ацидофицирующая способность щитка отмечена у злаков Fe-неэффективных видов, у которых интенсивность транслокации Fe из корней в побег в условиях Fe-дефицита относительно низкая.

Содержание микроэлементов (Fe, Mn и Zn) в корнях и побегах оценивали (после предварительного измельчения сухого растительного материала до состояния пудры) с помощью рентгено-флуоресцентного спектрометра «Спектроскан» (НПО «Спектрон», Россия). Достоверность различий между вариантами оценивали с привлечением критерия Student-Newman-Keuls, $P < 0,05$.

Овес и ячмень проявили себя как наиболее устойчивые к избытку Al растения (наименьшее ингибирование длины корня и/или сухой массы побегов). Растения этих видов характеризовались наибольшим накоплением Fe (не Mn или Zn) в корнях и побегах (при одновременном присутствии Fe и Al в среде), а также наименьшим подкислением среды щитками (при Fe-дефиците). При этом показатель Fe-эффективности растений (ацидофицирующая активностью щитков), отрицательно коррелировал ($r > - 0,94$, $P < 0,01–0,03$) с накоплением Fe в побегах при одновременном содержании Fe и Al в среде. Следовательно, толерантность злаков к Al связана с эффективностью транспорта экзогенного Fe в побег в условиях Al-токсичности. Сходство в ответных реакциях злаков на избыток алюминия и карбоната кальция в среде можно объяснить общностью реакций, связанных с обеспечением эффективности питания растений железом при этих разновидностях минерального стресса.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ НОВЫХ СЛОЖНЫХ ОКСИЛИПИНОВ В ЛИСТЬЯХ ЛЮТИКА ЕДКОГО (*RANUNCULUS ACRIS*)

Identification of novel complex oxylipins from *Ranunculus acris* leaves

Блуфард А.С., Ярин А.Ю., Мухитова Ф.К., Чечеткин И.Р., Гречкин А.Н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук, Казань, Россия; ablufard@gmail.com

Оксилипины – физиологически активные продукты окисления непредельных жирных кислот. Многие из них играют ключевую роль в клеточном сигналлинге и в различных механизмах защиты растений. Достаточно хорошо изучена 12-оксо-ФДК – предшественник – 7-изожасмоновой кислоты, а также собственно 7-изожасмоновая кислота и родственные двенадцатиуглеродные циклопентаноновые производные, объединяемые под общим названием «жасмоноиды».

С другой стороны, роль дивиниловых эфиров в жизни растения не так хорошо изучена, как роль жасмонатов. Кроме того, до сих пор остается открытым вопрос о роли оксилипинсодержащих сложных липидов. Наиболее изученными представителями этой группы соединений являются арабидопсиды. Они представляют собой моно- или дигалактозилдиацилглицерины, содержащие остатки 12-оксо-ФДК или динор-оксо-ФДК. Показано вовлечение арабидопсидов в механизмы защиты растений от патогенов. Кроме того, ранее нами была обнаружена группа сложных липидов, содержащих дивиниловые эфиры. Эта группа соединений получила общее название линолипины.

Данная работа посвящена обнаружению и установлению структуры двух новых членов группы сложных оксилипинов. В галактолипидной фракции, выделенной из листьев лютика едкого, наблюдалось несколько соединений, поглощающих при 267нм (максимум поглощения дивинилового эфира (ω5*Z*)-этероленовой кислоты). На данный момент полностью идентифицировано, включая положение заместителей в молекуле глицерина, два молекулярных вида. Их структура определялась методами ВЭЖХ, масс-спектрометрии, одно- и двумерной ЯМР-спектроскопией, а также ферментативным гидролизом.

ЯМР-спектры соединений R1 и R3 показали присутствие одного остатка галактозы в структуре соединений. По данным масс-спектрометрии и двумерного ЯМР было установлено, что соединение R1 содержит один остаток (ω5*Z*)-этероленовой кислоты и один остаток dn-(ω5*Z*)-этероленовой кислоты, а соединение R3 - остатки (ω5*Z*)-этероленовой и гексадекатриеновой кислот. Положение заместителей в молекуле глицерина было установлено ферментативным гидролизом sn-1 специфичной липазой *Rhizopus Arrhizus.*

Таким образом, установлена точная структура двух новых соединений, получивших предварительные названия R1 и R3. Они представляют собой моногалактозилдиацилглицерины, содержащие (ω5*Z*)-этероленовую/dn-(ω5*Z*)-этероленовую кислоты и (ω5*Z*)-этероленовую/гексадекатриеновую кислоты, соответственно. Примечательно, что гексадекатриеновая кислота и ее метаболит — dn-(ω5*Z*)-этероленовая кислота этерифицированы исключительно в sn-2 положении по глицерину.

Этот факт коррелирует с данными по арабидопсидам. В частности арабидопсиды A и C также содержат C-16 оксилипины строго в sn-2 положении.

Таким образом, обнаружены и охарактеризованы два новых представителя группы сложных оксилипинов, содержащих этерифицированные дивиниловые эфиры. Более того, лютик — одно из немногих растений, наряду с арабидопсисом и льном, в листьях которого найдены оксилипинсодержащие галактолипиды.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 15-04-04108а, гранта президиума РАН (программа «Молекулярная и клеточная биология»).

РЕПРОГРАММИРОВАНИЕ МИКРОСПОР ГОРОХА НА СПОРОФИТНЫЙ ПУТЬ РАЗВИТИЯ

Reprograming of pea microspores towards sporophytic pathway of development

Бобков С.В.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт зернобобовых и крупяных культур ФАНО России, Орел, Россия; svbobkov@gmail.com

Преимущество использования дигаплоидов в селекции сельскохозяйственных культур определяется тем, что полностью гомозиготные растения с различными комбинациями аллелей могут быть получены в течение двух генераций. Методы классической селекции позволяют достигнуть достаточно высокого уровня гомозиготности (99,2%) в результате отбора растений в течение 7 генераций. Горох (*Pisum sativum* L.) является видом, для которого не разработаны надежные методики получения гаплоидных растений. Одним из направлений исследований по получению дигаплоидов гороха является репрограммирование микроспор с гаметофитного на спорофитный путь развития с последующей регенерацией растений в культуре *in vitro*.

Эксперименты проводили с использованием культуры *in vitro* изолированных пыльников и микроспор селекционных линий и сортов гороха. Получены микрокаллусы, морфогенные и эмбриогенные каллусные ткани, глобулярные эмбриоиды и растения-регенеранты гороха. Морфогенные каллусные ткани получены преимущественно на агаризованных средах, содержащих 0,02-0,2 мг/л БАП и НУК. Эмбриогенные каллусные ткани инициированы на питательных средах в присутствии регуляторов роста 2,4-Д (0,05-0,5 мг/л) и ИМК (8 мг/л). Использование температурного стресса стимулировало формирование эмбриогенных каллусов и эмбриоидов. Обработка бутонов холодом (4°С) в течение 7-8 сут приводила к увеличению числа зеленых морфогенных каллусов и формированию полупрозрачных каллусных тканей с вторичным формированием глобулярных эмбриоидов. Жизнеспособные эмбриогенные каллусные ткани были получены на питательной среде с низким содержанием 2,4-Д (0,05 мг/л) в результате последовательной обработки бутонов холодом (4°С, 2-4 сут) и изолированных пыльников теплом (35°С, 18 ч). Эмбриогенные каллусы и эмбриоиды были инициированы преимущественно на средах с низким (меньше 15 г/л) содержанием сахарозы. Формирование первичных каллусов возможно при полном отсутствии сахарозы в питательных средах. Каллусогенез с эффективностью 20% наблюдали на среде с заменой сахарозы на 60 г/л мальтозы после обработки бутонов холодом (4°С) в течение 1 мес.

Растения-регенеранты в культуре пыльников гороха получены после переноса морфогенных каллусных тканей на среды с высоким содержанием БАП (4-5 мг/л) и низким - НУК (0,2-1 мг/л). Культивирование эмбриогенных каллусных тканей, сформированных на среде с 2,4-Д с комбинированным температурным стрессом (4°С и 35°С), на среду MSB с 4 мг/л БАП и 1 мг/л НУК приводило к замене последовательного развития эмбриоидов на морфогенез побегов. В результате получены длительно культивируемые каллусные культуры с сочетанием процессов пролиферации каллусной ткани и регенерации побегов. Оценку происхождения растений-регенерантов гороха проводили с использованием культуры пыльников гибридов гороха F_1 К-23-00 (ЛУ-203-94×Tristar). Соматические клетки пыльников имели генотип *Detdet Fasfas* (*det* – детерминантный тип побега, *fas* – фасциированный побег). Растения с таким генотипом характеризовались нормальной формой стебля. Практически все растения-регенеранты R_0 имели нормальный стебель. В семьях регенерантов R_1 отмечалось расщепление по маркерным генам *Detdet Fasfas*, что указывало на гетерозиготность регенерантов R_0 и, следовательно, происхождение растений из соматических клеток пыльников. В культуре изолированных пыльников гороха вместе с нормальными растениями R_0 получены два растения-регенеранта, характеризующиеся фасциированным стеблем. Наличие фасциированного стебля определялось постмейотическим генотипом микроспор *DetDet fasfas* и служило маркером для идентификации гаплоидных растений.

Проведено изучение культуры изолированных микроспор 6 генотипов гороха с использованием температурного стресса и 7 вариантов известных питательных сред KM, NLN и MSB с различным содержанием регуляторов роста, витаминов, антиоксидантов, сахаров, глутамина и гидролизата казеина. Изолированные бутоны и микроспоры гороха были подвергнуты стрессовым воздействиям холодом (4°С) и теплом (35°С), соответственно. Определены стрессовые воздействия и варианты питательных сред, стимулирующие и поддерживающие репрограммирование микроспор на спорофитный путь развития. В условиях питательных сред отдельные микроспоры гороха приобретали признаки перехода на путь эмбриогенеза. Форма микроспор становилась округлой, ядро перемещалось к центру клетки, увеличивалась интенсивность окраски цитоплазмы. У отдельных эмбриогенных микроспор наблюдали выпячивание микропласта через поры за пределы экзины. Микрокаллусы (эмбриоиды) были получены в условиях жидких вариантов питательных сред KM и MSB с низким содержанием сахарозы (1 и 6 г/л, соответственно). К положительным результатам приводил только один вариант стрессового воздействия – обработка бутонов холодом. Продолжительность стрессового воздействия холодом, эффективного для инициации формирования микрокаллусов в жидких вариантах сред KM и MSB составила 16 и 10 сут, соответственно.

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА РАСТЕНИЙ РОДА *ARTEMISIA*

Богданова Е.С.[1], Нестеров В.Н.[1], Розенцвет О.А.[1], Табаленкова Г.Н.[2], Захожий И.Г.[2]

[1] *Федеральное бюджетное учреждении науки Институт экологии Волжского бассейна РАН, Тольятти*
[2] *Федеральное бюджетное учреждении науки Институт биологии Коми УроРАН, Сывтывкар*
cornales@mail.ru

Род *Artemisia* (полынь) насчитывает около 400 видов растений, многие из которых используются в пищевой и фармакологической промышленности. Лекарственные свойства полыней обусловлены наличием в них химических соединений, обладающих биологической активностью. Фармакологические свойства растений рода связывают с содержанием в них эфирных масел, фенольных соединений, полисахаридов и пигментов. В составе эфирных масел разных видов полыней обнаружены насыщенные и ненасыщенные алифатические, ароматические, терпеновые, сесквитерпеновый, моно- и циклические углеводороды и их производные – спирты, альдегиды, кетоны, сложные эфиры, простые эфиры кислот, лактонов, и оксиды, а также – гетероциклическое соединения. В полынях может содержаться более 50 разных компонентов химических соединений фенольной природы, включая флавоноиды, обладающих антиоксидантными свойствами. Следует отметить, что в последнее время в биомедицинской науке возрос интерес к липидам и их жирным кислотам (ЖК), поскольку они являются жизненно важными компонентами клетки и представляют собой большую группу органических соединений, которые отличаются не только по химическому составу и физиолого-биохимическим функциям. Ненасыщенные ЖК, как моно- (МНЖК), так и полиненасыщенные (ПНЖК), положительно влияют на метаболических функции организма как растительных, так и животных организмов. Следует подчеркнуть, что состав БАВ рода *Artemisia* может значительно меняться в зависимости от факторов среды, стадии онтогенеза и видовых особенностей растений. Анализ литературных данных показывает, что при исследовании состава и содержания БАВ растений, включая виды *Artemisia*, как правило, изучается один класс соединений.

Цель данной работы заключалась в комплексном изучении состава БАВ разных классов (эфирные масла, флавоноиды, сахара, липиды и ЖК, пигменты) у представителей рода *Artemisia* в условиях Приэльтонья.

Объекты исследования – *Artemisia santonica* L., *A. pauciflora* Web., *A. lerchiana* Web. (сем. – *Asteraceae* Dumort., подсем.– *Asteroideae*, триба – *Artemideae* Cass.) – многолетние растения, полукустарнички высотой от 15 до 75 см. Биологический материал отбирался в прибрежной зоне оз. Эльтон в июне 2013–2014 гг.

Выход эфирного масла, в пересчете на воздушно сухой растительный материал, составил 0.18% для *A. lerchiana*, 0.22% для *A. pauciflora* и 0.33% для *A. santonica*. В образцах эфирных масел идентифицировано 44 соединения, содержание которых составляло более 0.3% от суммы всех компонентов цельного масла. Помимо терпенов и терпеноидов в состав выделенной методом гидродисциляции фракции входят жирные кислоты и ароматические нефенольные соединения (о-цимол и п-цимен-8-ол). В составе эфирного масла *A. santonica* среди прочих были идентифицированы даванон, нералидол, давановый эфир, которые отсутствовали в *A. pauciflora*, *A. lerchiana*.

Установлено, что в *A. santonica* содержанием полифенолов было наибольшим, около 50 мг GAE/г сухой массы. Подобная закономерность характерна и для содержания флавоноидов. Так, суммарное содержание флавоноидов распределялось в порядке убывания *A. santonica* < *A. pauciflora* < *A. lerchiana* (32,7, 13,7 и 12,1 мг CE/г сухой массы, соответственно).

В исследованных растениях углеводы представлены моно- и дисахарами. Листья *A. santonica* содержали в 1,4 раза больше углеводов по сравнению с *A. pauciflora* и *A. lerchiana*. Как видно из рисунка доля дисахаров в *A. santonica* была выше, чем моно и составляла 29,3 мг/г сухой массы. В *A. lerchiana* отмечали равное соотношение углеводов (1,9 и 20,2 мг/г сухой массы, соответственно), а фотосинтезирующие органы *A. pauciflora* меньше всего накапливали моносахара 9,1 мг/г сухой массы.

Общее содержание пигментов в исследованных видах, было достаточно близким у *A. pauciflora* и *A. lerchiana* (3,43 и 3,76 мг/г сухой массы), но ниже в 1,5–1,7 раз, чем у *A. santonica*. Концентрация каротиноидов (Кар) была в 4–6 раз меньше, чем зеленых пигментов. Листья *A. santonica* накапливали больше зеленых пигментов и имели более высокие значения соотношения Хл/Кар.

Содержание ЖК в расчете на сухую массу растений варьировало в интервале 8,5–11,2 мг/г для пальмитиновой кислоты, а количество ННЖК в интервале 35–45 мг/г, что составляет 3–5% от сухой массы.

Таким образом, качественный состав ЖК, фенольных соединений и пигментов, многих компонентов эфирных масел у исследованных видов идентичен, а их количественный состав зависит от видовых особенностей. В то же время отдельные виды могут служить источником индивидуальных БАВ таких как даванон, нералидол, давановый (*A. santonica*).

СРАВНИТЕЛЬНАЯ АНАТОМО-МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КЛЕТОК ЭПИДЕРМИСА И ПАРЕНХИМЫ КОРЫ ГИПОКОТИЛЯ ДВУХ ГЕНОТИПОВ ТОМАТА В УСЛОВИЯХ ХЛОРИДНОГО ЗАСОЛЕНИЯ *IN VITRO*

Comparative anatomical and morphological characteristics of epidermal and cortex parenchymal hypocotyl cells in two tomato genotypes under chloride salinity *in vitro*

Богоутдинова Л.Р. [1,2], **Баранова Г.Б.** [1], **Баранова Е.Н.** [1], **Халилуев М.Р.** [1,2]

[1] *ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии РАСХН, Москва, Россия; greenpro2007@rambler.ru, salix43@mail.ru*

[2] *ФГБОУ ВО Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия; marat131084@rambler.ru, bogoutdinova_lr@rambler.ru*

Засоление является одним из главных стрессовых факторов, лимитирующих выращивание сельскохозяйственных культур. По литературным данным от 33% до 50% общей площади орошаемых земель в мире подвержено засолению. Томат (*Solanum lycopersicum* L.) – высокочувствительная к засолению культура. Пороговое значение электропроводности почвенного раствора (EC_e) для томата составляет 2,5 дСм/м, что по классификации ФАО соответствует почве со слабой степенью засоления (EC_e = 2,0–4,0 дСм/м).

Необходимым условием при изучении механизмов устойчивости растений к стрессовым воздействиям абиотической природы является создание и поддержание контролируемых константных условий, которых сложно достичь при тестировании в вегетационных сосудах в защищенном грунте или же невозможно при проведении полевых испытаний. Отмеченных недостатков лишена система тестирования растений в экспериментальных условиях *in vitro*. Культивирование растений, а также их изолированных фрагментов, на питательных средах с добавлением токсичных ионов позволяет за сравнительно непродолжительный период времени провести скрининг потенциально устойчивых форм уже на ранних этапах развития.

В условиях засоления *in vitro* отмечено ингибирование роста проростков и регенерантов томата по различным морфометрическим показателям. Это обусловлено гиперосмотическим и токсическим влиянием избыточных ионов. В настоящий момент крайне ограничены исследования по изучению воздействия токсических ионов Na^+ и Cl^- на мезоструктурную организацию тканей различных органов томата. Новые знания в данной области поспособствуют большему пониманию адаптивных реакций растений на стрессовые условия, а также раскрытию механизмов устойчивости к засолению, определению диагностических тестов и, в конечном итоге, повышению эффективности селекции на указанный признак. Таким образом, целью настоящего исследования являлось изучение мезоструктурной организации клеток эпидермиса и паренхимы коры гипокотиля двух генотипов томата в условиях хлоридного засоления *in vitro*.

Растительным материалом для исследований служили асептические проростки томата селекционной линии ЯЛФ и с. Рекордсмен. Стерилизованные семена культивировали на питательной среде Мурасиге-Скуга, дополненной 3% сахарозой и 0,7% агаром. На этапе формирования настоящих листьев у проростков отсекали базальную часть гипокотиля с корнями и переносили на среду для индукции ризогенеза, не содержащей хлорида натрия (контроль), а также с добавлением NaCl в концентрациях 50, 100, 150, 200 и 250 мМ. На восьмые сутки культивирования фрагменты гипокотилей размером 2–3 мм, полученные из срединной части проростков, фиксировали в 2,5% растворе глутарового альдегида (Merck, Германия) на 0,1 М фосфатном буфере (pH 7,2) с добавлением 1,5% сахарозы. Впоследствии проводили постфиксацию в 1% растворе четырехокиси осмия (OsO_4) (Sigma, США), обезвоживание в этаноле повышающейся концентрации (30, 50, 70, 96 и 100%), окиси пропилена (Fluka, Германия), и заключение в смесь эпоксидных смол Эпона-812 и Аралдита (Merck, Германия) по стандартной методике. Статистическую обработку результатов эксперимента проводили с использованием параметрических критериев Стьюдента, Фишера и Дункана. Расчеты осуществляли с помощью статистических программ AGROS (версия 2.11) и Microsoft Excel 2007.

По результатам гистологического исследования установлены существенные различия между исследуемыми генотипами по размеру и форме эпидермальных и паренхимных клеток коры гипокотиля. Воздействие токсичных ионов Na^+ и Cl^- оказывало значительное влияние на размеры, а также на форму эпидермальных и паренхимных клеток гипокотиля у обоих генотипов. Генотипы так же различались между собой и по объему межклетников в паренхиме коры гипокотиля в условиях засоления. В целом, по данным показателям можно сказать, что эпидермальные и паренхимные клетки гипокотиля томата сорта Рекордсмен оказались менее чувствительными к присутствию в среде токсичных ионов. Представленные экспериментальные данные согласуются с полученными ранее результатами, показывшими, что реакция клеток отдельных типов тканей на хлоридное засоление сильно варьирует не только при сравнении растений разных видов, но и сильно зависит от особенностей конкретных анализируемых генотипов одного вида.

УЧАСТИЕ МЕЛАТОНИНА В ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССАХ ПРОРОСТКОВ *LYCHNIS CHALCEDONICA* L. НА КРАСНОМ СВЕТУ

The participation of melatonin in oxidative processes in seedlings of *Lychnis chalcedonica* L. under red light

Бойко Е.В., Головацкая И.Ф.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», Томск, Россия
CaterinaSoloveva@gmail.com

Процессы образования активных форм кислорода (АФК) и механизмы регуляции их метаболизма (генерации и удаления) вызывают интерес уже довольно давно. Известна двойственная функция АФК, они могут выполнять сигнальные функции, а как высокореактивные вещества способны повреждать структуры и нарушать физиолого-биохимические процессы клетки. Они модифицируют белки, окисляя –SH-группы, FeS-центры ферментов, в результате чего меняются их функциональные свойства. АФК вызывают фрагментацию пептидных цепей, повышают чувствительность белков к действию протеаз. АФК способны прямо взаимодействовать с нуклеиновыми кислотами, вызывая повреждение азотистых оснований. Модификация оснований становится причиной разрывов водородных связей между цепями ДНК и появления новых связей. Другой мишенью действия АФК являются липиды. АФК способны запускать каскад реакций – перекисное окисление липидов (ПОЛ). Имеются сведения о мутагенной и ингибиторной (клеточное деление) активности продуктов ПОЛ (малоновый диальдегид, 4-гидроксиалкенали и др.). Поддержание уровня АФК и локализация их действия осуществляется специализированной многокомпонентной антиокислительной системой. В настоящее время число известных соединений, относящихся к антиоксидантам, постоянно возрастает. Известно, что гормон сна человека мелатонин (Мел) является одним из самых сильных природных иммуномодуляторов и антиоксидантов. Кроме того, было показано, что экзогенное применение мелатонина может увеличивать продукцию антиоксидантных ферментов, таких как глутатионпероксидаза и супероксиддисмутаза.

Мел находят во всех царствах организмов, он обнаружен и во многих видах растений. У растений, так же как и у позвоночных животных и человека, был отмечен колебательный характер секреции Мел. Так уровень Мел у *Chenopodium rubrum* подвержен суточным колебаниям с увеличением в течение ночи и снижением в течение дня. Есть данные, свидетельствующие о том, что Мел играет защитную роль от окислительного повреждения, вызванного УФ-облучением. Так максимальная величина концентрации Мел была обнаружена при воздействии на растение *Glycyrrhiza uralensis* УФ-В излучения (280–315 нм). Все это дает основание считать, что Мел способен играть антиоксидантную роль в растениях и его действие зависит от света. Целью данного исследования было изучение влияния Мел на окислительные процессы в проростках *Lychnis chalcedonica* L. на красном свету (КС).

Исследование проводили на 5-дневных проростках *Lychnis chalcedonica* L., культивированных на питательной среде Мурасиге-Скуга в стерильных условиях на красном свету, которые переводили на питательную среду с добавлением Мел («Sigma» США) в концентрациях 0,1 пМ и 1 мкМ на двое суток с последующей фиксацией. Об изменении интенсивности ПОЛ судили по содержанию вторичного продукта ПОЛ – малонового диальдегида (МДА). Измерение оптической плотности растворов проб проводили на спектрофотометре «Genesys 10S UV-VIS» (США). Одновременно был определен уровень пролина и общая антиоксидантная активность (ОАА). Пролин – это низкомолекулярное соединение, которое обладает антиоксидантными, мембранопротекторными, осморегуляторными свойствами. Содержание свободного пролина определяли в свежем растительном материале с помощью метода Bates с соавт. (1975) с некоторыми изменениями. ОАА преимущественно показывает содержание низкомолекулярных соединений с антирадикальной активностью. ОАА в растениях определяли с использованием свободного стабильного радикала 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила.

В результате проведенных исследований показали, что содержание МДА в семядолях 7-дневных проростков в 2 раза выше, чем в гипокотилях, что связано с различными функциональными особенностями органов или уровнем субстратов окисления. Корневая обработка Мел низкой концентрации вызывала снижение уровня МДА в 2 раза в гипокотиле и на 20% в семядоле, что может объясняться более быстрым поступлением Мел в гипокотиль, чем в семядолю. При высокой концентрации экзогенного Мел его эффект в семядоле повышался относительно эффекта в гипокотиле, поскольку быстрее наступало насыщение клеток семядоли Мел. ОАА была выше в семядоли, чем гипокотиле и снижалась при воздействии Мел. Содержание пролина в семядолях было выше в 1,9 раз, чем в гипокотилях. При обработке Мел его содержание повышалось в большей степени при малых концентрациях, чем при высоких. Полученные результаты свидетельствуют о том, что Мел проявляет антиоксидантные свойства, или самостоятельно инактивируя АФК или, влияя на синтез других антиоксидантных соединений. Таким образом, установлена органоспецифичность и дозовая зависимость в проявлении действия мелатонина на окислительные процессы в проростках *L. chalcedonica* L. на КС.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЗАРОДЫШЕВЫХ КОРНЕЙ ПШЕНИЦЫ В КАЧЕСТВЕ ТЕСТ-ОБЪЕКТОВ НА НАЛИЧИЕ ФОВ

Use of germinal roots of wheat as test objects on the presence of organophosphate poisoning

Болдырев В.А., Степанов С.А.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского», Саратов, Россия
hanin-hariton @yandex.ru

Экологический мониторинг в зонах хранения и уничтожения химоружия предполагает в комплексе других мероприятий увеличение числа чувствительных тест-объектов на фосфорорганические ксенобиотики и специфические компоненты их деструкции в дополнение к существующим биотестам - микрорганизмам, некоторым беспозвоночным животным (инфузории, дафнии), микроводорослям.

Исследования проводились на проростках *Triticum aestivum* (с. Саратовская 36), растущих в термостате при температуре +22°С. Семена пшеницы (10-15 шт.) замачивались в течение суток в дистиллированной воде, а затем переносились в чашки Петри с различной концентрацией водных растворов Vx по вариантам опыта. В контроле проростки росли в чашках Петри с дистиллированной водой (10 мл). В опытных вариантах концентрация Vx составляла по вариантам: $1\text{-}2\cdot10^{-14}$, $2\text{-}2\cdot10^{-13}$, $3\text{-}2\cdot10^{-12}$, $4\text{-}2\cdot10^{-11}$, $5\text{-}2\cdot10^{-10}$, $6\text{-}2\cdot10^{-9}$, $7\text{-}2\cdot10^{-8}$ мг/мл. На 4-е сут осуществляли основные измерения - длины колеоптиля, зародышевых корней, зоны растяжения главного корня, длины корневых волосков и их числа (на расстоянии 7400 мкм от чехлика корня). Все исследования проводили на испытательном стенде научно-исследовательской лаборатории СВИРХБЗ.

Во всех вариантах опыта отмечалась стимуляция роста зародышевых, верхних придаточных корней. Наибольшая стимуляция наблюдалась при концентрации Vx $2\cdot10^{-9}$ и $2\cdot10^{-8}$ мг/мл - соответственно 157 и 161% по сравнению с контролем. Меньший стимулирующий эффект выявлен в отношении главного зародышевого корня. При концентрациях Vx $2\cdot10^{-14}$ и $2\cdot10^{-4}$ мг/мл отмечено незначительное ингибирование роста нижней пары зародышевых придаточных корней - соответственно 97% и 93% от контроля. В остальных вариантах опыта также отмечалось стимулирование роста нижних придаточных корней пшеницы. Столь различная реакция на Vx со стороны верхних и нижних придаточных корней, главного корня зародыша, возможно, определяется разным уровнем их развития на момент внесения ФОВ, а также деструкцией Vx в течение эксперимента. Длина колеоптиля при некоторых концентрациях Vx была меньше (1,4 и 6 варианты опыта), в остальных - больше, чем у контрольных растений.

При изучении влияния Vx на развитие некоторых признаков главного зародышевого корня пшеницы отмечено, что при всех концентрациях Vx в опыте наблюдается увеличение длины зоны элонгации корня. Наиболее существенное возрастание этой зоны корня отмечено при концентрациях Vx $2\cdot10^{-9}$ - $2\cdot10^{-11}$ мг/мл - соответственно 176, 183 и 224 % по сравнению с контролем. В присутствии Vx значительно уменьшалась длина корневых волосков, достигая 25% от контроля при концентрации Vx $2\cdot10^{-8}$ мг/мл. Еще более существенно проявлялось влияние Vx на инициацию корневых волосков. При некоторых концентрациях Vx их число составляло 4% ($2\cdot10^{-10}$ мг/мл), 18% ($2\cdot10^{-8}$ мг/мл) от контрольных растений. У некоторых опытных растений наблюдалось уменьшение величины чехлика, прикрывающего апекс корня. Таким образом, проведенные исследования показали перспективность использования проростков, в частности зародышевых корней пшеницы в качестве удобного тест-объекта на фосфорорганические ксенобиотики.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России в рамках базовой части государственного задания в сфере научной деятельности по заданию № 2014/203, код проекта: 128.

ИССЛЕДОВАНИЕ ФОТОСИНТЕЗА И ДЫХАНИЯ У САЖЕНЦЕВ БЕРЕЗЫ ПОВИСЛОЙ ПОСЛЕ СИЛЬНЫХ НОЧНЫХ ЗАМОРОЗКОВ

Photosynthesis and respiration in birch saplings after severe night frosts

Болондинский В.К.

ФГБУН Институт леса Карельского научного центра РАН, Петрозаводск; bolond@krc.karelia.ru

В посадках на южной окраине г. Петрозаводска с помощью газометрической системы Li-6200 (Licor, США) изучали CO_2-газообмен листьев березы повислой (*БП*) и ее экологической формы - карельской березы (*БК*). Измерения проводились в 2008-2011 гг. во время вегетации и после листопада - с октября до середины ноября. К середине октября после ночных заморозков и пониженной дневной температуры воздуха 4-6-летние саженцы (высота 2-3 м) сбрасывали большую часть листвы. Однако, примерно у 10% из них, особенно у деревьев *БК*, оставалось некоторое количество зеленых листьев поздней генерации, которые активно поглощали углекислоту. Еще больше листьев оставалось на двухлетних саженцах высотой 50-100 см. Рост листьев и побегов на саженцах *БК* заканчивался в начале сентября, а у *БП* уже во второй половине августа. Во второй половине сентября до наступления ночных заморозков средние величины фотосинтеза в диапазоне температур 10-16°С у *БК* и *БП* составляли 8,7 и 8,1 мкмоль $м^{-2} с^{-1}$, темновое дыхание – -1,4 и -1,2 мкмоль $м^{-2}с^{-1}$, соответственно. По мере появления ночных заморозков и их усиления величины CO_2-газообмена снижались. Измерения, проведенные через 2 дня после сильного заморозка (-6ºС) в середине октября показали, что величины CO_2-газообмена снизились в среднем на 60% от значений долистопадного периода. К концу октября количество зеленых листьев у 2-3-метровых саженцев сильно уменьшилось, особенно у *БП*. Однако оставшиеся листья при положительной температуре продолжали активно поглощать углекислоту. Фотосинтез при дневной температуре 5-7°С составлял соответственно у *БК* и *БП* 4,7 и 3,1 мкмоль $м^{-2} с^{-1}$, а дыхание – -1,4 и -0,9 мкмоль $м^{-2} с^{-1}$. Содержание хлорофилла *Хл* (*a*+*b*) в листьях у *БК* и *БП* было примерно одинаковым и последовательно уменьшалось по мере усиления заморозков, как и *Хл a/b*. При этом уменьшение концентрации *Хл b* происходило более медленными темпами, чем *Хл a*, что сказывалось на окраске листьев, приобретавших все более желто-зеленый цвет. Содержание же каротиноидов, наоборот, в октябре в среднем на 12% превышало сентябрьские значения. В ноябре еще оставались зеленые листья на *БП*, хотя их было много меньше, чем на *БК*. Фотосинтез при +4ºС в солнечную погоду не превышал 3,2 мкмоль $м^{-2} с^{-1}$, дыхание колебалось в интервале -0,5–-0,9 мкмоль $м^{-2} с^{-1}$. После заморозков в середине ноября (до -10ºС) и последующего холодного периода с дневной температурой -1–+1ºС все зеленые листья потеряли тургор и погибли. Сильные ночные заморозки вели к промерзанию поверхностного слоя почвы. Когда днем температура остается низкой, из промерзшей земли поступление воды прекращается. Если транспирация продолжается, потеря влаги листом может привести к его обезвоживанию. Гибель клеток, тканей и растений под действием морозов обусловливается необратимыми изменениями, происходящими в протопласте клеток: его коагуляцией, денатурацией коллоидов протопласта, механическим давлением льда, повреждающим поверхностные структуры цитоплазмы, кристаллами льда, нарушающими мембраны и проникающими внутрь клетки.

У саженцев, заканчивающих рост позднее больших деревьев, устойчивость к низким температурам оказалась выше и листья долгое время сохраняли свою жизнеспособность. Клетки молодых листьев имеют больший предел сжатия и обезвоживания, чем у сформировавшихся листьев. Не исключено, что большая устойчивость листьев у карельской березы была обусловлена тем, что они были на две недели моложе листьев березы повислой. С другой стороны, запасы углеводов, особенно в корнях, у *БК* более значительны. Концентрация сахаров весной в соке *БК* в три раза выше, чем у *БП* (Новицкая, 2008), что способствует в сезонном развитии выживанию *БК* в неблагоприятных экологических условиях. Запасы питательных веществ создаются не только в корнях, но и в лубе. Именно эта специфичная для карельской березы особенность, вероятно, обеспечивает сохранность ассимиляционного аппарата в позднеосенний период. Повышение устойчивости обусловлено активностью аттрагирующих центров, индуцирующих изменение гормонального обмена, образование гидрофильных белков, моно - и олигосахаридов, увеличение количества полярных липидов и снижение насыщенности их жирнокислотных остатков; увеличение количества защитных белков. Все это позволяет поддерживать структуру и жизнеспособность фотосинтетического аппарата в условиях низкотемпературного стресса. С другой стороны, сахара, образующиеся в процессе фотосинтеза, защищают белковые соединения от коагуляции при вымораживании; образуют гидрофильные связи с белками цитоплазмы, предохраняя их от возможной денатурации, повышают осмотическое давление и снижают температуру замерзания цитозоля. Адаптационные компенсаторные изменения обмена веществ позволяют поддерживать листьям метаболические реакции на определенном уровне и достаточно активно поглощать углекислоту в период заморозков.

Работа выполнена за счет средств федерального бюджета (номер темы 0220-2014-0001), а также при финансовой поддержке РФФИ (грант № 13-04-00827а).

ГЕНЕРАЦИЯ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОЙ ЭЛЕКТРОН-ТРАНСПОРТНОЙ ЦЕПИ И ИХ СИГНАЛЬНАЯ РОЛЬ

Production of reactive oxygen species in the photosynthetic electron transport chain and their signal function

Борисова-Мубаракшина М.М., Козулева М.А., Ветошкина Д.В., Иванов Б.Н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук, Пущино, Россия; ivboni@ramber.ru

Основной источник активных форм кислорода (АФК) в растениях на свету - хлоропласты, в которых АФК возникают, преимущественно, вследствие того, что кислород может выступать как альтернативный акцептор электронов от переносчиков фотосинтетической электрон-транспортной цепи. Супероксидный анион-радикал, O_2^-, образуется при восстановлении молекул O_2 в пластохиноновом пуле и на акцепторной стороне фотосистемы 1 (ФС1). Эксперименты свидетельствуют, что непосредственным восстановителем O_2 до O_2^- в пластохиноновом пуле служит пластосемихинон. Прямые измерения участия ферредоксина, часто предлагавшегося в качестве восстановителя O_2 в хлоропластах, показывают, что он практически не участвует в восстановлении кислорода в присутствии $НАДФ^+$. Механизм восстановления кислорода в ФС1 был изучен путем сравнения особенностей этого процесса в комплексах ФС1, изолированных из цианобактерий дикого типа и из мутантов, которые не способны синтезировать филлохинон, и содержат в хинонсвязывающем центре A_1 пластохинон вместо филлохинона. Полученные результаты предполагают, что филлохинон является основным восстановителем молекул O_2 в ФС1.

Топография генерации супероксидных радикалов в тилакоидной мембране при протекании фотосинтетического электронного транспорта была изучена с использованием ЭПР-детекторов, обладающих различной растворимостью в липидах. Было найдено, что часть O_2^- на свету образуется в липидной фазе тилакоидной мембраны, и что продукция таких радикалов может превышать их продукцию на поверхности тилакоидов. При увеличении интенсивности света скорость образования как супероксидных радикалов, так и перекиси водорода, H_2O_2, увеличивается, и было обнаружено, что это увеличение происходит, преимущественно, за счет возрастания скорости образования обеих АФК внутри тилакоидной мембраны.

Участие пула пластохинона в восстановлении кислорода зависит от интенсивности света также как продукция внутримембранной перекиси водорода. Вклад пластохинонового пула в восстановление кислорода до H_2O_2 в фотосинтетической электрон-транспортной цепи существенно выше, чем его вклад в первичное восстановление молекул O_2 до O_2^-, и составляет более 50% при высокой интенсивности света. Эти данные могут быть объяснены протеканием реакции супероксидных радикалов с пластогидрохиноном и образованием перекиси водорода в этой реакции на внутренней стороне границ тилакоидной мембраны.

Фотосинтетическая электрон-транспортная цепь хлоропластов – не только преобразователь световой энергии, но и чувствительный датчик изменений, происходящих в окружающей среде и в метаболизме растений. Окислительно-восстановительное состояние пластохинонового пула управляет многими адаптационными реакциями в растениях, в частности, контролирует экспрессию хлоропластных и ядерных генов, кодирующих белки реакционных центров фотосистем 1 и 2 и светособирающего комплекса фотосистемы 2. Система редокс сигнализации с участием АФК – одна из основных систем сигнализации в клетках растений, сопряженная с другими сигнальными системами. Поскольку скорость генерации молекул H_2O_2 внутри мембраны может отражать текущее состояние пластохинонового пула, предполагается, что именно эти молекулы являются первичными мессенджерами в сигнальных путях от пластохинонового пула к хлоропластному и ядерному геномам. Нами было показано, что молекулы H_2O_2 диффундируют на свету из хлоропластов в цитоплазму, и что диффузия осуществляется через аквапорины.

Роль перекиси водорода как инициатора сигнальных путей, ведущих к изменению размера светособирающей антенны фотосистемы 2, была исследована путем изменения содержания H_2O_2 в тканях листа. Было найдено, что при высокой интенсивности света экспериментальное уменьшение содержания H_2O_2 препятствовало уменьшению размера антенны фотосистемы 2, происходящему *in vivo* при увеличении освещенности растений, и, напротив, увеличение содержания H_2O_2 при низкой интенсивности света приводило к уменьшению размера антенны. Результаты соответствуют роли этой АФК как сигнального агента в развитии ответа на изменение освещенности растений.

АДАПТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КЛЕТОЧНОГО МЕТАБОЛИЗМА ЭТИОЛИРОВАННЫХ И ЗЕЛЕНЫХ РАСТЕНИЙ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ ПРИ НИЗКОЙ ТЕМПЕРАТУРЕ

Adaptive changes of cellular metabolism of etiolated and green winter wheat plants at low temperature

Боровик О.А., Грабельных О.И., Королева Н.А., Побежимова Т.П.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия; ol.borovik@mail.ru

Низкая температура является одним из основных факторов, ограничивающих произрастание и распространение многих видов растений. Различные физиолого-биохимические изменения, формирующиеся в результате «холодового закаливания», позволяют растениям приобретать устойчивость и противостоять пагубному действию низкой температуры. Торможение роста, синтез стрессовых белков, накопление криопротекторов (в числе которых сахара) – одни из факторов повышения холодо- и морозоустойчивости растений. Успешность холодового закаливания также зависит от эффективности фотосинтеза и дыхания, как основных путей углеродного и энергетического метаболизма в растительной клетке. Несмотря на то, что механизмы, участвующие в повышении холодо- и морозоустойчивости растений, изучаются довольно давно, остается много не изученных аспектов. Так, до конца не изучено функционирование в растительных митохондриях как гетеротрофных, так и фотоавтотрофных тканей при холодовом закаливании альтернативной оксидазы (АО), не выяснено как изменение углеводного статуса при холодовом закаливании растений влияет на дыхательную активность митохондрий и вклад АО в дыхание. В связи с этим целью работы явилось изучение ряда параметров низкотемпературного закаливания и морозоустойчивости этиолированных и зеленых растений озимой пшеницы и анализ зависимости функционирования АО в митохондриях из листьев озимой пшеницы от условий освещенности и обеспеченности сахарами при действии низкой закаливающей температуры.

В работе использовали 7-сут этиолированные и зеленые растения озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) с. Иркутская. Этиолированные растения закаливали в темноте при 2°С и в темноте при 2°С на растворе 12% сахарозы. Зеленые растения закаливали при следующих условиях: а) при 5/2°С (16 ч фотопериод) и освещенности 200 мкмоль/($м^2$·с); б) при 5°С (24 ч фотопериод) и освещенности 200 мкмоль/($м^2$·с); в) в темноте при 2°С; и г) в темноте при 2°С на растворе 12 % сахарозы. Закаливание и выращивание растений на сахарозе осуществляли в течение 7 сут.

Независимо от типа ткани и условий закаливания низкая температура приводила к ингибированию роста побегов, накоплению сахаров и синтезу дегидринов в листьях и повышению морозоустойчивости озимой пшеницы. Наиболее морозоустойчивыми были этиолированные растения, закаленные на сахарозе и зеленые растения, закаленные на непрерывном свету и в темноте на сахарозе. В этих же условиях наблюдалось и наибольшее увеличение содержания сахаров в листьях. Установлено, что экзогенная сахароза индуцирует синтез дегидринов с мол. массами 18 и 24 кД как в листьях этиолированных, так и зеленых растений. Поскольку в этих условиях повышалась морозоустойчивость растений, можно говорить о защитной роли индуцированных сахарозой дегидринов. Наибольшее содержание сахаров в зеленых листьях наблюдалось при закаливании растений в условиях непрерывного освещения, что свидетельствует о сохранении высокой фотосинтетической активности хлоропластов при действии низкой температуры.

При закаливании была отмечена зависимость скорости дыхания митохондрий от углеводного статуса, а также выявлена важная роль АО в энергетическом метаболизме как фотоавто-, так и гетеротрофных клеток при низкой температуре. Экзогенная сахароза как в контрольных условиях, так и при действии низкой температуры увеличивала потенциальную активность АО в митохондриях из этиолированных листьев при окислении малата, сукцината, НАД·Н и НАДФ·Н. Выращивание зеленых растений на сахарозе приводило к увеличению потенциальной активности АО при окислении митохондриями сукцината, НАД·Н и НАДФ·Н. В то же время закаливание растений на сахарозе сопровождалось значительным повышением активности АО при окислении митохондриями всех используемых субстратов, кроме глицина. Увеличение потенциальной активности АО в митохондриях (при окислении определенных субстратов) из зеленых листьев наблюдали при выращивании и закаливании растений в темноте на сахарозе и при закаливании на непрерывном свету (когда отмечали наибольшее накопление сахаров и рост морозоустойчивости). Особенно значимым при закаливании на непрерывном свету можно считать увеличение активности АО при окислении митохондриями глицина.

Таким образом, высокое содержание водорастворимых углеводов и высокая активность в митохондриях АО при действии низких температур являются одними из механизмов повышения морозоустойчивости озимой пшеницы. При этом при холодовом закаливании растений функционирование альтернативной оксидазы регулируется как световым режимом выращивания, так и доступностью субстратов для дыхания митохондрий. Рассеивание избытка восстановительных эквивалентов от хлоропластов через альтернативные ферменты дыхания, возможно, предотвращает развитие окислительного стресса в хлоропластах при низкой температуре и, таким образом, обеспечивает эффективную работу фотосинтетического аппарата и накопление сахаров.

ИЗУЧЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА *A* ХЛОРОПЛАСТОВ ЛИСТЬЕВ *CANNA X HYBRIDA* HORT. В УСЛОВИЯХ *IN VITRO* И ПРИ АДАПТАЦИИ *IN VIVO*

Investigation of fluorescence of chlorophyll *a* parameters of leaf chloroplasts in *Canna* x *hybrida* hort. in conditions *in vitro* and during adaption *in vivo*

Браилко В.А., Митрофанова И.В., Митрофанова О.В., Тевфик А.Ш.

Государственное бюджетное учреждение Республики Крым «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр», Ялта, Россия; valentina.brailko@yandex.ru

Канна садовая (*Canna x hybrida* hort.) – многолетнее травянистое растение из тропических и субтропических районов Америки и Юго-Восточной Азии, которое благодаря ярким цветкам и соцветиям разнообразных форм и окрасок, сизо-зеленым или фиолеово-красным листьям справедливо считают высокодекоративным. В связи с тем, что в последние годы у данной культуры отмечено высокое поражение вирусной инфекцией, что вызывает ухудшение физиологического состояния растений и потерю декоративных качеств, нами проводится разработка методов получения безвирусного посадочного материала и ускоренного размножения различных сортов этого растения в условиях *in vitro*. Полученные регенеранты высаживали для адаптации *in vivo* в стерильный почвенный субстрат, с поддержанием высокого уровня влажности. После этого размножаемый материал пересаживали в оранжерею в условия *in situ*. В условиях адаптации растения вынуждены перейти с гетеротрофного типа питания на автотрофный, приспособится к новому водному и световому режиму. Это сопряжено со структурной и функциональной перестройкой регерантов, что отражается на их физиологическом состоянии. Поэтому для оптимизации условий размножения и выращивания, а также выявления более пластичных генотипов нами изучены параметры индукции флуоресценции хлорофилла *a* хлоропластов листьев *Canna x hybrida* в асептических условиях и при адаптации к *in vivo* и *in situ*.

Исследования проводили на перспективных сортах канны садовой – Ливадия (группа Крози, селекции Никитского ботанического сада) и Суевия (группа Орхидеевидных канн, сорт зарубежной селекции). Для измерения фотосинтетической активности отбирали 3-й и 4-й лист каждого из вариантов регенерантов (в 5-кратной повторности). Срок культивирования объектов *in vitro* – 10 мес, сроки адаптации *in vivo* – 5 мес, в условиях оранжереи растения выращивались на протяжении 2 лет. Длина листьев варьировала от 11,0–16,4 см (*in vitro*) до 21,3–54,8 см (*in situ*). Параметры фотосинтетической активности (ФА) измеряли при помощи портативного флуориметра «Флоротест», произведенного в 2010 г в Институте кибернетики им. В.М. Глушкова НАН Украины. Листья предварительно адаптировали к темноте в течение 8 мин. Оптимальная длительность экстраполяции соответствовала времени выхода кривых Каутского на плато стабилизации (3 мин). Светодиод имеет максимальную интенсивность излучения на λ=470±20 нм. В ходе экспериментов регистрировали следующие показатели: начальный уровень флуоресценции после облучения (F_0), максимальное (F_m) и стационарное (F_{st}) значения флуоресценции после световой адаптации. Рассчитывали переменную флуоресценцию ($F_v = F_m - F_0$), ФА = ($F_m - F_{st}$) / F_m, а также индекс жизнеспособности – F_m / F_{st} (по Stirber A., 2011).

Базовый уровень (F_0) составлял 896-1456 относительных единиц флуоресценции (отн.ед.), и наиболее высокий показатель был в вариантах *in vitro* у обоих исследуемых сортов. Наряду с этим выявлены следующие различия в кинетике индукции флуоресценции. У сорта Суевия время достижения F_m составило 47-53 с (значение F_m = 3464 отн.ед. у объектов *in vitro*, 3008 и 2968 – у *in vivo* и *in situ* соответственно), вместе с тем спад кривой носил монотонный характер. У образцов сорта Ливадия состояние максимума флуоресценции (2864-3136 отн.ед.) достигалось за 27-32 с, достижение стационарного состояния происходило через промежуточное плато (точки S и T). Установлено, что рост флуоресцентного сигнала от F_0 к F_m был наиболее высоким у вариантов сорта Суевия *in vitro* – 2200 отн.ед. и сорта Ливадия *in vivo* – 2048 отн.ед. Как отмечают ряд авторов (Веселова, 1994; Корнеев, 2002, Aiyelaagbe, 2005), наибольшие величины F_v присущи фотосинтетическим аппаратам с наилучшим функциональным состоянием, а длительность перехода к стационарному уровню определяется интенсивностью возбуждающего света, температурой окружающей среды и генотипическими особенностями самого фотосинтетического аппарата исследуемых объектов. Рассчитанный показатель ФА (отражает эффективность утилизации света при фотосинтезе) планомерно возрастал у сорта Суевия при переносе регенерантов из условий *in vitro* в *in vivo,* а затем в *in situ* от 0,52 до 0,63, при этом у сорта Ливадия ФА достигал более высокого значения - 0,69 в условиях *in vivo*. Самый низкий индекс жизнеспособности отмечен у регенерантов сорта Ливадия *in vitro* (1,57), а самый высокий – у того же сорта в варианте адаптации *in vivo* (3,19). Во всех вариантах у сорта Суевия данный индекс варьировал в пределах 2 ед. (2,01 – *in vitro,* 2,67 – *in situ*).

Анализируя полученные данные, можно сделать вывод о более высокой адаптационной способности регенерантов *Canna x hybrida* сорта Ливадия в условиях *in vivo* и *in situ* благодаря нормальному функционированию фотосинтетического аппарата листьев и быстрому восстановлению метаболизма. Применение исследований флуоресценции хлорофилла дает возможность оперативной оценки состояния растений, прогноза их адаптивности на различных этапах культивирования.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда по гранту № 14-50-00079.

ДЕЙСТВИЕ Ni^{2+} И Cu^{2+} НА ТРАНСПОРТ ИОНОВ ЧЕРЕЗ ПЛАЗМАЛЕММУ В МУЖСКОМ ГАМЕТОФИТЕ ПОКРЫТОСЕМЕННЫХ РАСТЕНИЙ

The effect of Ni^{2+} and Cu^{2+} on plasmalemma ion transport in angiosperm male gametophyte

Брейгина М.А, Абрамочкин Д.В., Клименко Е.С., Ермаков И.П.

ФГБОУ ВПО Московский Государственный Университета имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия
pollen-ions@rambler.ru

Мужской гаметофит покрытосеменных растений обеспечивает успех репродуктивного процесса, доставляя неподвижные спермии к зародышевому мешку с помощью пыльцевой трубки. В то же время, он является ценным модельным объектом для изучения индукции морфогенеза и поддержания полярного роста на клеточном уровне. Влияние различных веществ, накапливающихся в экосистемах вследствие антропогенного воздействия, на репродукцию растений является актуальной темой как с фундаментальным, так и с прикладным аспектом. В настоящее время пыльцевые зерна широко используются для тестирования различных биологически активных веществ и токсикантов. Это связано как с удобством культивирования, так и с ключевым значением мужской фертильности для урожая. Установлено, что тяжелые металлы снижают эффективность прорастания пыльцы, однако механизмы их действия изучают сравнительно недавно, и на данный момент в этой теме больше вопросов, чем ответов.

Ключевым процессом, обеспечивающим как активацию метаболизма на начальном этапе прорастания, так и поддержание полярного роста, является транспорт неорганических ионов через плазматическую мембрану. В результате этого процесса на этапе активации происходит суммарное изменение концентрации ионов в цитоплазме, а в пыльцевой трубке формируется и поддерживается их градиентное распределение. Ионный транспорт четко скоординирован с другими процессами, такими, как перестройка цитоскелета, везикулярный транспорт, строительство клеточной стенки. В настоящий момент ион-транспортные системы активно исследуются на молекулярном уровне, однако их регуляция и чувствительность к различным токсическим соединениям на данный момент изучена весьма слабо.

В данной работе исследовали действие двух металлов – никеля и меди – в низких токсических концентрациях на транспорт ионов через плазматическую мембрану мужского гаметофита. В качестве объектов использовались протопласты из пыльцевых зерен лилии и пыльцевых трубок табака.

Ионные токи изучали прямым методом «пэтч-кламп» в конфигурации «whole cell». Мы показали, что Ni^{2+} (1 мМ) значительно ингибирует ток K^+ и слабо активирует ток H^+. Cu^{2+} не оказывала действия на ток K^+, но значительно активировала ток H^+. Специфичность измерения токов обеспечивалась подбором внутренней и внешней среды, а также применением избирательных ингибиторов.

Тяжелые металлы вызывали не только модификацию ионных токов, но и различные изменения в величине мембранного потенциала - интегрального показателя ионного транспорта. Его величину оценивали оптическим методом с использованием быстрого красителя Di-4-ANEPPS. Измерение внутриклеточного pH показало, что Cu^{2+} вызывает сдвиг этого показателя в сторону щелочных значений, что вполне согласуется с обнаруженным эффектом на выходной ток H^+.

Таким образом, мы на функциональном уровне выявили две ключевые мишени для тяжелых металлов на плазматической мембране вегетативной клетки мужского гаметофита: калиевые каналы и H^+-АТФазу плазмалеммы. При этом действие меди и никеля на данные мишени было различным.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 14-04-31431 мол-а).

УЛЬТРАСТРУКТУРА КЛЕТОК МЕЗОФИЛЛА И РЕАКЦИЯ КЛЕТОЧНЫХ ФУНКЦИЙ ЛИСТЬЕВ *SCILLA SIBIRICA* НА СИЛЬНЫЙ СВЕТ И ВЫСОКУЮ ТЕМПЕРАТУРУ

Ultrastructure of the mesophyll cells and responses of the cell functions in *Scilla sibirica* leaves to high irradiance and high temperature

Буболо Л.С., Кислюк И.М., Каменцева И.Е.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук, г. Санкт-Петербург, Россия; l_bubolo@mail.ru

Клетки мезофилла зрелых листьев ранневесеннего эфемероида *Scilla sibirica* по сравнению с клетками летневегетирующих растений средней полосы в середине вегетации отличаются более высоким объемом цитоплазмы по отношению к общему объему клетки и повышенным содержанием органоидов в цитоплазме. Отмечено более высокое содержание митохондрий, пероксисом, гранулярного и агранулярного эндоплазматического ретикулума, полисом и рибосом.

Клетки листьев пролески сибирской содержат липидные капли разных размеров, некоторые из них сопоставимы по размерам с митохондриями. Такие включения практически не встречаются в клетках закончивших рост листьев летневегетирующих растений. Хлоропласты пролески характеризуются «световой» структурой – низким парциальным объемом тилакоидной системы и преобладанием малотилакоидных (до 6 тилакоидов) гран. У хлоропластов пролески много выростов и инвагинаций, которые характерны для пластид северных и высокогорных растений и не встречаются у летневегетирующих растений средней полосы в естественных условиях.

Фотосинтетический аппарат *Scilla sibirica* отличается повышенной устойчивостью к фотоингибированию, индуцированному как низкой (что было показано ранее), так и высокой температурой. Освещенность до 350 Вт/м^2 ФАР во время 10 мин прогревов листьев пролески при 42-44°С уменьшала подавление фотосинтеза по сравнению с прогревами в темноте. У всех других исследованных однодольных и двудольных растений из естественных местообитаний или выращенных в лабораторных условиях такая же освещенность резко увеличивала ингибирование фотосинтеза при нагревах. В листьях пролески и других исследованных растений высокая освещенность (350-400 Вт/м^2 ФАР) во время прогревов при 48-54°С усиливала подавление реакции восстановления 2,3,5-трифенилтетразолия хлорида (ТТХ), осуществляемого в основном митохондриальными дегидрогеназами. Одночасовая экспозиция листьев пролески сибирской при такой же освещенности и температуре 25°С не вызывала подъема теплоустойчивости фотосинтеза (который происходит у летневегетирующих растений), однако увеличивала устойчивость реакции восстановления ТТХ к последующим прогревам как на свету, так и в темноте. Этот эффект у исследованных летневегетирующих растений либо отсутствует, либо наблюдается только при повышении температуры до 35°С во время экспозиции листьев при 350-400 Вт/м^2 ФАР.

ДЕЙСТВИЕ ВЕЩЕСТВ ВТОРИЧНОГО МЕТАБОЛИЗМА БОРЩЕВИКА СОСНОВСКОГО *HERACLEUM SOSNOWSKYI* MANDEN НА РОСТ И РАЗВИТИЕ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ

The effects of secondary metabolites of hogweed *Heracleum sosnowskyi* Manden on the growth and development of some plant species

Бударин С.Н., Лизунова И.Е., Ларикова Ю.С., Кондратьев М.Н.

Российский государственный аграрный университет – Московская сельскохозяйственная академия имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия; plantphys@timacad.ru

Борщевик Сосновского, обладая массивным габитусом и стремительным развитием надземных органов, в течение нескольких лет заполняет огромные территории. Также борщевик содержит активные вещества - фурокумарины, такие как бергаптен, изопимпинеллин, ксантотоксин и др. Они обладают фотосенсибилизирующим свойством.

В нашей работе мы провели ряд исследований по влиянию препарата «Аммифурин», содержащий фурокумарины и водного экстракта борщевика на рост и развитие растений ярового овса.

В результате мы получили следующие данные. В опыте с экстрактом борщевика растения овса уступали в развитии стебля и образовании зерен в метелке к контрольным растениям. И слабое угнетение в развитии корня при обработке экстрактом борщевика. В опыте с препаратом «Аммифурин» мы выявили стимулирующий эффект на образование количества зерен в соцветии – 29 по отношению к контрольным растениям – 19,2. Также биомасса соцветий отличалось явным положительным эффектом при опрыскивании препаратом «Аммифурин» - 1,08 г, тогда как в контрольных растениях (опрыскивание H_2O) – 0,71 г. Масса 1000 зерен уступало в обоих вариантах контрольным растениям и составило: контроль – 28,5 г, экстракт борщевика – 28,1, препарат «Аммифурин» - 24 г. На развитие растений редиса Сорт Сакса водный экстракт борщевика оказывал ингибирующее действие, а препарат «Аммифурин» наоборот оказывал стимуляцию, что отражалось на сырой и сухой биомассе.

Полученные данные показывают, что растение борщевика обладает и положительными свойствами, стимуляцией развития биомассы стебля и корня, а также технически важного показателя – масса 1000 зерен, что было показано в обработке с препаратом «Аммифурин». Вещества борщевика обладают и ингибирующими свойствами на формирование зерен, так, показатели массы 1000 зерен в обработанных вариантах уступали контрольному. На растения редиса водный экстракт и препарат действовали иначе. Подобные эффекты фиксировали и на многочисленных видах растений.

Таким образом, мы можем высказать мнение, что на развитие и рост растений ценоза борщевик оказывает различное действие и, скорее всего, подобный эффект зависит от конкретного вида растений соседствующих, с борщевиком.

ВЛИЯНИЕ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА НА СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И РОСТ САБЕЛЬНИКА БОЛОТНОГО (*COMARUM PALUSTRE* L.)

The effect of plant growth regulators on the accumulation of phenolic compounds and the growth of *Comarum palustre* L.

Булатова С.В., Бахтенко Е.Ю., Петрова П.И.

ФБГОУ ВПО Вологодский государственный университет, Вологда, Россия
vavilon@vologda.ru; bakhtenko@yandex.ru

Целью работы являлось изучение влияния обработок регуляторами роста (гиббереллином и хлорхолинхлоридом) на накопление фенольных соединений (суммы растворимых фенольных соединений и флаванов) в сабельнике болотном (*Comarum palustre* L.). Заготовка растительного сырья проводилась в Великоустюгском районе Вологодской области в двух местообитаниях: 1 - на низинном болоте (осоково-вахтово-сабельниковая ассоциация), 2 - в сосняке сфагновом (сосняково-сабельниково-бруснично-черничная ассоциация).

Содержание фенольных соединений определяли спектрофотометрическим методом. Анализировали содержание суммы растворимых фенольных соединений (СФС) и флаванов в листьях, стеблях, корневищах с корнями и цветках сабельника болотного в фазу цветения.

Установлено, что у растений, произрастающих на низинном болоте в условиях высокой освещенности (13000-20000 лк), выше содержание растворимых фенольных соединений и флаванов в надземных органах и подземной части по сравнению с растениями, произрастающих в сосняке сфагновом в условиях низкой освещенности (2000-5000 лк).

В фазу вегетации растения сабельника обрабатывали водным раствором гиббереллина в концентрации 100 мг/л. Контрольные растения обрабатывали водой. Через 24 дня после обработки измеряли ростовые показатели и анализировали содержание фенольных соединений.

Обработка гиббереллином увеличила высоту и сухую массу растений сабельника по сравнению с контролем на низинном болоте на 28% и 11%, а в сосняке сфагновом на 18% и на 20%, соответственно.

Под действием обработки гиббереллином возросло содержание растворимых фенольных соединений (СФС) и флаванов. Так, в местообитании 1 содержание СФС в листьях увеличилось на 19% , в стеблях – на 31%, а в корневищах с корнями - на 27% к контролю. В местообитании 2 содержание СФС возросло в листьях и стеблях на 37%, в корневищах с корнями – на 41%. В местообитании 1 содержание флаванов в листьях увеличилось на 9%, в стеблях - на 13%, в корневищах с корнями – на 18% к контролю. А в местообитании 2 содержание флаванов повысилось в листьях на 10%, в стеблях и корневищах с корнями на 21% и 25% к контролю соответственно.

В следующей серии экспериментов растения сабельника в фазу бутонизации обрабатывали раствором хлорхолинхлорида в концентрации 0,4%. Показатели измеряли через 8 дней. Обработка хлорхолинхлоридом уменьшила высоту побегов сабельника и сухую массу по сравнению с контролем на низинном болоте на 42% и 44%, а в сосняке сфагновом на 51% и 36%, соответственно.

Под действием обработки хлорхолинхлоридом снизилось содержание растворимых фенольных соединений (СФС) и флаванов. Так, в местообитании 1 содержание СФС в листьях уменьшилось на 33%, в стеблях – на 6%, в цветках – на 2% к контролю. В корневищах с корнями содержание СФС не изменилось. В местообитании 2 содержание СФС уменьшилось в листьях и стеблях на 9%, а в корневищах с корнями – на 8% к контролю. Снижение флаванов в местообитании 1 составило в листьях на 16%, а в стеблях и цветках – на 17% к контролю. В корневищах с корнями содержание флаванов не изменилось. В местообитании 2 содержание флаванов снизилось в листьях на 10%, а в стеблях и корневищах с корнями – на 7% к контролю соответственно.

Таким образом, стимуляция роста посредством обработки гиббереллином наблюдается на фоне увеличения содержания фенольных соединений. Ингибирование роста под действием обработки хлорхолинхлоридом сопровождается снижением накопления фенольных соединений. Изучение интеграции ростовых процессов и накопления фенольных соединений как биологически активных веществ на уровне целого растения дает основу для создания системы целенаправленной экзогенной регуляции продукционного процесса и качества сырья лекарственных растений.

ДВА МЕХАНИЗМА СТРУКТУРНОЙ АДАПТАЦИИ АССИМИЛЯЦИОННОГО АППАРАТА ВЕЧНОЗЕЛЕНЫХ РАСТЕНИЙ К НИЗКИМ ТЕМПЕРАТУРАМ ЗИМНЕГО ПЕРИОДА

Two mechanisms of assimilation apparatus structural adaptation of evergreen plants to low winter temperatures

Булышева М.М.[1,2], Котеева Н.К.[1], Миргородская О.Е.[1]

[1] *Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург, Россия; massha_b@mail.ru*
[2] *Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*

Для вечно- и зимнезеленых растений умеренной зоны большое значение имеют адаптации ассимиляционного аппарата к перенесению неблагоприятного зимнего периода. Для ранее изученных видов хвойных растений зимой показаны изменения ультраструктуры хлоропластов: сильно уменьшается количество гран и тилакоидов в гранах, исчезают крахмальные зерна. Строма становится более плотной, увеличивается количество пластоглобул. Перестройка тилакоидной системы хлоропластов способствует снижению вероятности повреждения фотосинтетического аппарата вследствие совместного действия низких температур и интенсивного света (фотоингибиция). В то же время, для двух покрытосеменных: *Muscari tubergenianum* Hoog ex Turrill и *Hedera helix* L. было показано, что зимой хлоропласты имеют хорошо развитую гранальную систему, а у озимой пшеницы в зимний период происходит увеличение количества фотосинтетических мембран. Эти растения являются травянистыми и переживают зиму и начало весны под покровом снега, что предотвращает возможность фотоингибиции.

Снижение количества крахмала связано с тем, что во время закаливания он трансформируется в растворимые сахара, которые являются криопротекторами. Также есть данные об увеличении объема стромы хлоропластов и расширении самих хлоропластов. Увеличение объема стромы хлоропластов зимой способствует удержанию определенного количества воды в связанном состоянии, что является адаптивным к понижению температуры, поскольку это препятствует образованию кристаллов льда.

Целью нашего исследования явилось сравнительное изучение ультраструктурных изменений хлоропластов двух видов древесных покрытосеменных растений: *Mahonia aquifolium* (Pursh) Nutt. и *Rhododendron ledebourii* Pojark.

Для обоих видов была показана реорганизация тилакоидной системы в годичном цикле. У рододендрона при подготовке к осенне-зимнему периоду, как у изученных ранее видов хвойных крупные граны исчезают, преобладают одиночные тилакоиды и граны, состоящие из 2-3 тилакоидов; лишь к лету восстанавливается структура с большим количеством крупных гран. Изменения в составе и организации мембран являются неотъемлемой частью защиты фотосинтетического аппарата в ответ на изменение внешних условий. Высокая освещенность в комбинации с низкими температурами может являться причиной деструкции различных сайтов фотосинтетического аппарата, приводить к снижению эффективности фотосистемы II (ФС II) - фотоингибиции, а, впоследствии, и к разрушению белков реакционного центра.

Существует гетерогенность среди центров ФСII по отношению к функции и локализации вдоль тилакоидных мембран. $ФСII_{\beta}$ локализована в мембранах тилакоидов, соприкасающихся друг с другом в гранах, и характеризуется большими размерами светособирающих антенн, чем $ФСII_{\alpha}$. Поскольку размеры светособирающих антенн регулируют степень фотоингибиции, то можно предположить, что уменьшение протяженности участков с сопряженными мембранами, где находится $ФСII_{\beta,}$ снижает вероятность фотоингибиции.

Для магонии характерна обратная картина: в зимний период количество тилакоидов в гранах увеличивается. Магония – кустарник, ее листья в зимний и весенний период часто не защищены снежным покровом, поэтому отсутствие разборки гран является интересным фактом. Возможно, что у магонии другой механизм защиты фотосинтетической системы. В частности известно, что магония относится к видам, листья которых имеют интенсивную красную окраску в зимнее и, особенно, весеннее время, что обычно связано с накоплением антоцианов. Такие виды, в отличие от зимующих с зелеными листьями, характеризуются повышенной теневыносливостью и большей устойчивостью к фотоингибиции за счет фотопротекторных свойств антоцианов.

Для магонии и рододендрона так же, как для изученных ранее хвойных, показано содержание большого количества крахмала в весенне-летний период, уменьшение содержания крахмала осенью и его исчезновение зимой за счет его трансформации в криопротекторы.

Таким образом, наши исследования сезонной ритмики ультраструктуры хлоропластов древесных покрытосеменных дают основание предположить существование двух вариантов структурных механизмов адаптации ассимиляционного аппарата к низким температурам зимнего периода.

УЧАСТИЕ САХАРОВ В УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ К СТРЕССУ

Participation of sugars in plant resistance to stress

Бурмистрова Н.А., Красавина М.С., Лунькова Н.Ф.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия; na_burmistrova@ippras.ru

Хорошо известно, что растворимые углеводы играют важную роль в осморегуляции клеток. Поэтому любое воздействие, нарушающее осмотический баланс, вызывает компенсаторное увеличение содержания углеводов. Это происходит при воздействии низких температур, засолении, засухе.

Могут ли углеводы играть заметную роль при других воздействиях, непосредственно не влияющих на водно-солевой баланс, – менее очевидно. В пользу такой возможности свидетельствует недавно получившее распространение представление о сигнальной функции углеводов, а также об их участии в окислительно-восстановительных реакциях и их роль в качестве шаперонов. В этом случае даже не участвуя в осмотическом балансе, углеводы могут способствовать повышению устойчивости растений.

В работе использовали 2-недельные растения ярового рапса (*Brassica napus* L.) сорта Вестар (Westar), росшие в камере фитотрона при 24°С с 12 ч фотопериодом на питательном растворе Хогланда. Часть растений перенесли на 7 суток на такой же раствор, но содержащий 100 мкМ $CuSO_4$. Определяли содержание сахарозы, глюкозы и фруктозы в донорных листьях. Обнаружили, что в листьях растений, находившихся на среде с Cu^{2+}, содержание фруктозы было на 63% больше по сравнению с растениями, находившимися на питательном растворе без меди. Содержание сахарозы в растениях, находившихся на меди, было лишь незначительно выше, а уровень глюкозы был практически одинаковым в обеих группах растений.

Помимо растений дикого типа в работе использовали трансгенные растения с введенным геном трансфакторного белка OsMyb 4, стимулирующего развитие неспецифической устойчивости. Обнаружили, что в трансгенных растениях, находившихся на среде с Cu^{2+}, содержание всех трех сахаров было значительно выше, чем в растениях на питательной среде без меди. При этом содержание фруктозы было выше на 84%, сахарозы – на 13%, и глюкозы – на 48%. Таким образом, реакция сахаронакопления у трансгенных растений на введение Cu^{2+} в среду была более ярко выражена, чем у растений дикого типа, что может оказывать влияние на повышение устойчивости к повреждающему действию меди. Растения с введенным геном белка OsMyb 4 оказались более устойчивы, поскольку при более продолжительном (15 суток) нахождении растений на растворе, содержащем более высокую концентрацию меди (150 мкМ) контрольные растения дикого типа погибли, а трансгенные растения сохраняли жизнеспособность. Вероятно, такая устойчивость связана с накоплением растворимых сахаров. Поскольку повышение содержания сахаров является неспецифическим ответом растений на неблагоприятные условия среды, что подтверждается и нашими опытами с растениями рапса, находившимися в условиях пониженной температуры (до 4°С), то можно предположить, что накопление сахаров дает не только осмотический эффект, но и влияет на экспрессию ряда генов, способствующих выживанию растения в неблагоприятных условиях. Такое предположение можно сделать на основании накапливающихся литературных данных о сигнальной роли сахаров.

Разница в содержании фруктозы между растениями на среде с медью и без меди была выше, чем разница по глюкозе. Это может быть обусловлено, с одной стороны, более интенсивным использованием глюкозы в метаболических реакциях. Вторым объяснением более высокого содержания фруктозы может быть преобладание сахарозосинтазной реакции над инвертазной, поскольку фруктоза является единственной гексозой, образованной сахарозосинтазой. В этом случае можно предполагать важную роль сахарозосинтазной реакции в неспецифической устойчивости растений.

Накопление гексоз на среде с медью наблюдали не только в листьях, но и в стеблях и в корнях как трансгенных, так и нетрансформированных растений. Вероятно, такой ответ на воздействие Cu^{2+} является неспецифичным и для органов растений.

МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСНОВЫ СМЕНЫ СТРАТЕГИИ АДАПТАЦИИ ЖЕНЬШЕНЯ (*PANAX GINSENG* C.A. MEYER) ПРИ ОКУЛЬТУРИВАНИИ

Morphofunctional principles determining the change of the adaptation strategy of ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer) during its domestication

Бурундукова О.Л.[1], Иванов Л.А.[2], Иванова Л.А.[2], Киселев К.В.[1],Маханьков В.В.[3], Лауве Л.С.[1], Хроленко Ю.А.[1], Бурковская Е.В.[1], Музарок Т.И.[1], Журавлев Ю.Н.[1]

[1] *ФГБУН Биолого-Почвенный институт ДВО РАН, Владивосток, Россия; burundukova.olga@gmail.com*
[2] *ФГБУН Ботанический сад - институт Ур О РАН, Екатеринбург, Россия; Leonid.Ivanov@botgard.uran.ru*
[3] *ФГБУН Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН, Владивосток, Россия; makhan@piboc.dvo.ru*

Дикорастущий женьшень *Panax ginseng* C.A. Meyer – исчезающее лекарственное растение. Окультуривание «корня жизни» началось еще в первом веке до н.э., и было призвано восполнить ресурсы ценного лекарственного сырья. Однако в условиях искусственного воспроизводства лечебные свойства корня женьшеня ослабевают, и содержание в нем основных биологически активных веществ – гинзенозидов, снижается. Природа данного явления остается слабо исследованной. Известно, что химическая композиция листьев растений связана с экологической стратегией вида, и закономерно изменяется в ряду типов стратегий Граймa: стресс-толерантная (S), конкурентная (C), рудеральная (R). Тип экологической стратегии вида генетически детерминирован, и может быть экспериментально определен на основании морфологических и функциональных характеристик. Для большинства видов растений, используемых в сельском хозяйстве (кукуруза, подсолнечник, ячмень и т.д.). Граймом определен смешанный, конкурентно-рудеральный тип экологической стратегии, в то время как для дикорастущего женьшеня характерна ярко выраженная стресс-толерантная стратегия выживания. Эта стратегия, однако, не обеспечивает высоких выходов биомассы и не может быть основой для селекционного процесса при окультуривании. Нами было выдвинуто и проверено предположение, что окультуривание стресс-толерантного вида сопряжено с изменением его стратегии адаптации.

Проведенные исследования показали, что адаптация стресс-толерантного вида в условиях плантации осуществляется посредством системных структурно-функциональных перестроек на организменном, тканевом, клеточном, а также биохимическом и молекулярно-генетическом уровнях организации растений. Обнаружено, что в распределении биомассы по органам у плантационных растений доля плодов в ходе адаптации увеличилась, а корней снизилась. Это привело к увеличению суммарной доли акцепторных органов (корни и плоды) на 12,3%, и уменьшению вдвое доли донорных органов (листья). Отмеченные изменения свидетельствуют о существенном отклонении морфологии культурных растений от эволюционно сложившегося в условиях природных местообитаний «стресс-толерантного» морфотипа дикого женьшеня. Дискриминантный анализ морфометрических признаков женьшеня и типичных представителей S-, R-, C- типов стратегий показал расхождение выборок дикой и культурной разновидности, при этом дикие растения женьшеня имели близкое сходство с S-стратегами, а плантационные значительно от них отличались. Это свидетельствует о том, что в условиях культуры большее развитие приобрели признаки, характерные для конкурентного и рудерального типа экологических стратегий, а именно: C-тип - увеличение площади листьев, биологической продуктивности, доли стеблей и плодов, R-тип - ускорение темпов развития, сокращение жизненного цикла, увеличение семенной продуктивности.

Изменение морфотипа у плантационного женьшеня привело к увеличению акцепторной нагрузки на донор - лист, что должно было привезти к перестройке и повышению активности фотосинтетического аппарата. Нами обнаружены существенные перестройки на уровне тканей и клеток мезофилла листа культиваров: возросла величина индексов мембран клеток A_{mes}/A (в 1,4 раза) и хлоропластов A_{chl}/A (в 1,9 раз), увеличился объем клеток мезофилла (в 1,7 раз), уменьшилось ядерно-ядрышковое отношение. Такое изменение структуры мезофилльной ткани у растений свидетельствует о повышении скорости ассимиляции CO_2, а структуры интерфазных ядер клеток - о более высокой активности первичного обмена. Напротив, у дикой разновидности вторичный метаболизм, в частности, биосинтез гинзенозидов, был более активен. Об этом же свидетельствует и усиление экспрессии ключевых генов биосинтеза гинзенозидов *PgSS1* и *PgDDS*. О смене функционального состояния листа в условиях плантации также сигнализирует изменение соотношения стабильных изотопов углерода ($^{13}C/^{12}C$). Содержание тяжелого изотопа углерода ^{13}C в листьях плантационного женьшеня существенно выше, чем у дикорастущего.

Впервые показано, что в условиях культивирования (агрофитоценоза) важную роль в перестройке стратегии адаптации стресс-толеранта приобретают черты конкурентной и рудеральной экологических стратегий, что связано с изменением экологических свойств: «стресс-толерантные» свойства у культурной формы ослабевают, а «конкурентные» и «рудеральные» усиливаются. Дальнейшее изучение механизмов пластичности экологической стратегии этого реликта позволит найти новые подходы к повышению эффективности селекции и разработке новых технологий его культивирования.

СРАВНИТЕЛЬНЫЕ АНАТОМИЧЕСКИЕ, ЭКОЛОГО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ОДНОЛЕТНИХ ВИДОВ *SALSOLA* (*CHENOPODIACEAE*) СРЕДНЕАЗИАТСКИХ ПУСТЫНЬ И МОРСКИХ ПОБЕРЕЖИЙ ЯПОНСКОГО МОРЯ

Comparative anatomical, eco-physiological and population genetic studies of annual species of *Salsola* in Central Asian deserts and the Japanese sea coast

Бурундукова О.Л.[1], Шуйская Е.В.[2], Бурковская Е.В.[1], Чубарь Е.В.[3], Гисматуллина Л.Г.[4], Тодерич К.Н.[4]

[1] *ФГБУН Биолого-Почвенный институт ДВО РАН, Владивосток, Россия; burundukova.olga@gmail.com*
[2] *ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева, Москва, Россия; evshuya@mail.ru*
[3] *ФГБУН Дальневосточный морской заповедник, Владивосток, Россия; czubarj@rambler.ru*
[4] *Самаркандский государственный университет, Узбекистан; ktoderich@yahoo.com*

Триба *Salsoleae* является удобной «модельной системой» для изучения происхождения и эволюции C_4 фотосинтеза. Согласно теории, предложенной В.И. Пьянковым, наиболее вероятным центром происхождения «кранц синдрома» у солянок является Центральная Азия (Pyankov et. all, 2001). Здесь наблюдается большое экологическое, морфологическое и биохимическое разнообразие C_4-видов, присутствуют виды с C_3 и промежуточным C_3-C_4 типом фотосинтеза. Особый интерес представляет наиболее молодая секция однолетних солянок с НАДФ-МЭ типом фотосинтеза *Salsola* (*Kali*), представители которой встречаются далеко за пределами Центрально-азиатских пустынь, — в Сибири, в высокогорьях Памира, на Дальнем Востоке, на побережье Балтики.

Япономорский прибрежно-морской вид *S. komarovii* Iljin представляет уникальный пример наиболее отдаленного распространения представителей преимущественно пустынной флоры в районы с избыточно влажным и прохладным морским климатом.

Цель данной работы — выявить структурно-функциональные и популяционно-генетические изменения, обеспечившие адаптацию «малатного» (НАДФ-МЭ) вида *S. komarovii* к условиям морских побережий.

Для проведения сравнительных исследований были выбраны 4 вида пустынных однолетних солянок, представителей двух независимых филогенетических линий эволюции — НАДФ-МЭ (ксерофиты *S. paulsenii, S. pestifer*) и НАД-МЭ (галофиты *C. lanata, S. incanescens*). Оказалось, что по ряду биохимических, анатомических и популяционно-генетических количественных характеристик *S. komarovii* имеет существенные отличия, как от НАД-МЭ галофитов, так и от НАДФ-МЭ ксерофитов, филогенетически близких к *S. komarovii*. У нее наблюдаются следующие особенности: промежуточные между пустынными галофитами и ксерофитами показатели содержания ионов Na^+, K^+, и K^+/Na^+; изменение генетической структуры популяций; перестройка структуры ассимиляционного аппарата (увеличение размеров клеток, снижение клеточного и пластидного наполнения листа) в сторону усиления черт галоморфности и признаков характерных для видов с НАД-МЭ типом фотосинтеза.

На примере *S. komarovii* показано, что у НАДФ-МЭ солянок при изменении ксеротермических климатических условий на более засоленные, прохладные и влажные, происходит усиление черт галофитизма (на структурном и функциональном уровнях), наблюдается частичное экспрессирование свойств видов НАД-МЭ типа, что допускает возможность реверсии к более древнему типу фотосинтеза. Однако, изменение тканево-клеточной структуры мезофилла, произошедшее вследствие увеличения уровня плоидности и укрупнения размеров клеток, позволило обеспечить им высокий уровень ассимиляции CO_2. Это свидетельствует не просто о реверсии в эволюции, а о развитии у НАДФ-МЭ солянок более эффективного, чем у древних НАД-МЭ видов способа адаптации к действию стрессовых факторов, позволяющего представителям молодой секции *Salsola* приспосабливаться к условиям новых местообитаний и расширять свой ареал.

РОЛЬ ГОРМОНОВ В РЕГУЛЯЦИИ ТРАНСКРИПЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ ГЕНОВ СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННЫХ БЕЛКОВ В РАСТЕНИЯХ ПРИ ГЕМИБИОТРОФНОЙ ИНФЕКЦИИ

The role of plant hormones in the regulation of PR-proteins expression in plants infected by hemibiotrophic pathogens

Бурханова Г.Ф., Сорокань А.В., Веселова С.В., Нужная Т.В., Максимов И.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академи наук, Уфа, Россия; guzel_mur@mail.ru

Растительные гормоны играют важную роль в регуляции процессов развития и формирования устойчивости растений к широкому спектру фитопатогенных грибов. Салициловая кислота (СК) запускает формирование системной приобретенной устойчивости в защите растений при инфицировании биотрофными грибами. Тогда как жасмоновая кислота (ЖК) обуславливает системно индуцированную устойчивость (СИУ) растений к насекомым и некротрофным патогенам. Известно, что обработка стимулирующими рост растения микроорганизмы (СРРМ), которые способны продуцировать сигнальные молекулы СК и ЖК, подготавливает растения к атаке патогенов и создает условия для более быстрой и сильной активации защитных механизмов, запуская СИУ. Повышение устойчивости растений сопровождается системной активацией транскрипции *PR*-генов и синтеза самих PR-белков (pathogenesis related-proteins), принимающих участие в защитных реакциях, направленных на предотвращение развития и распространения патогена. При разрушении клеточной стенки патогенного гриба важную роль играют гидролитические ферменты растений β-1.3-глюканазы (PR-2) и эндохитиназы (PR-3), которые часто действуют синергично. Растительные пероксидазы (PR-9) играют ключевую роль в защите растений от патогенов, принимая участие в синтезе антимикробных соединений и укреплении клеточной стенки растения путем формирования лигнина, что коррелирует с их устойчивостью.

В нашей работе при инфицировании растений пшеницы гемибиотрофным фитопатогеном *S.nodorum* Berk. наблюдалось повышение транскрипционной активности генов PR-белков - PR-2, PR-3, PR-9 в вариантах с обработкой ЖК (10^{-7}М), *B. subtilis* 26Д и при совместном применении ЖК (10^{-12}М) с бактерией. Из чего можно предположить, что регуляция транскрипции этих генов находится не только под контролем ЖК, но и бактерии рода *Bacillus*. В то же время, при совместном применении ЖК (10^{-7}М) и *B. subtilis* 26Д обнаружено снижение содержания транскриптов этих генов на протяжении всего эксперимента, что коррелировало с понижением устойчивости этих растений. Таким образом, наши данные показывают, что как предобработка растений бактериальной суспензией *B. subtilis* 26Д, так и ЖК способствует активизации защитных реакций в растениях пшеницы, связанных с повышением транскрипционной активности генов PR-белков. Эффект интерференции сигнальных путей при совместном применении бактерии и ЖК зависел от концентрации последней и проявлялся в подавлении транскрипционной активности генов, регулирующихся как ЖК, так и бактерией.

При формировании у растений картофеля защитной реакции против гемибиотрофа *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. мы изучили влияние СК и ЖК на активность транскрипции генов PR-1, PR-6 и PR9. Значительное накопление транскриптов генов PR-6 и PR-9 происходило в инфицированных растениях, обработанных ЖК или одновременно СК и ЖК, но не СК. Из чего можно предположить, что регуляция транскрипции генов PR-9 находится под контролем как СК, так и ЖК, но более высокая чувствительность гена PR-9 к жасмоновой кислоте предполагает ведущую роль ЖК. С другой стороны, индивидуальное применение ЖК или *B. subtilis* 26Д и совместное воздействие СК и *B. subtilis* 26Д способствовали активации генов PR-9 и были наиболее эффективными в защите растений картофеля от патогена *P. infestans*. Тогда как предобработка растений картофеля одновременно ЖК и *B. subtilis* 26Д резко снижала их устойчивость и подавляла транскрипционную активность генов PR-белков.

Таким образом, устойчивость растений картофеля к фитофторозу и растений пшеницы к септориозу регулируется через системную индуцированную устойчивость, где важное место в качестве посредника занимает ЖК. Можно предположить, что влияние бактерий *B. subtilis* 26Д близко к механизмам запуска системной индуцированной устойчивости, вызванном ЖК. Причем в сочетании с СК эффективность бактериальной иммунизации значительно увеличивалась, что предполагает отсутствие интерферирующего эффекта между этой сигнальной молекулой и бактериальным препаратом. Интересно, что при совместной обработке растений ЖК в различных концентрациях с *B. subtilis* 26Д наблюдается концентрационная зависимость антагонистического влияния бактерии и сигнальной молекулы друг на друга.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ по Соглашению №14.604.21.0016, уникальный идентификатор ПНИ - RFMEFI60414X0016.

ЭФФЕКТЫ УГЛЕВОД-СОДЕРЖАЩИХ БИОПОЛИМЕРОВ КЛЕТОЧНОЙ ПОВЕРХНОСТИ РИЗОСФЕРНЫХ БАКТЕРИЙ РОДА *AZOSPIRILLUM* НА РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ

Effects of the cell-surface carbohydrate-containing biopolymers of rhizosphere bacteria of the genus *Azospirillum* on plant development

Бурыгин Г.Л., Евсеева Н.В., Матора Л.Ю., Щеголев С.Ю.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук, Саратов, Россия; burygingl@gmail.com

Рост и развитие растений происходит в среде, сформированной и обильно заселенной бактериями. При этом растения обладают системами гомеостаза и сдерживания бактериальной колонизации их внутренних тканей. Одними из молекул, вызывающих каскад защитных биохимических реакций у растений, являются флагеллины – структурные белки, формирующие филамент жгутиков подвижных микроорганизмов. Взаимодействие бактериальных флагеллинов со специфическими растительными рецепторами приводит к значительному повышению внутриклеточной концентрации активных форм кислорода (в том числе и перекиси водорода), выделению этилена, снижению уровня метаболизма и скорости роста растений. Важной движущей силой эволюции симбиотических бактерий является повышение эффективности колонизации макроорганизма, в частности, путем преодоления иммунной системы растений. Примером такого механизма является гликозилирование флагеллина, снижающее вероятность узнавания этих молекул рецепторами растений. Так, для *Acidovorax avenae* (патоген риса) показано, что молекулы флагеллина авирулентного штамма N1141 индуцируют у растений защитные реакции, в отличие от флагеллина вирулентного штамма K1. При этом флагеллины этих штаммов различаются по расположению сайтов гликозилирования в полипептиде и структуре углеводных фрагментов.

Целью данной работы было исследование влияния гликозилированных флагеллинов рост-стимулирующих ризобактерий рода *Azospirillum* на рост и развитие проростков мягкой яровой пшеницы *Triticum aestivum* L. cv. Саратовская 29.

При добавлении растворов флагеллинов полярных жгутиков штаммов *Azospirillum brasilense* SR50 и *Neivispirillum* (=*Azospirillum*) *irakense* KBC1 (10 мкг/мл) к 3-х суточным проросткам пшеницы было выявлено значительное ингибирование длины (на 65%) и сухой массы (на 55%) корней, а также двукратное снижение митотического индекса клеток корневых меристем. При действии на проростки растворов флагеллинов в меньших концентрациях (0,01; 0,1 и 1 мкг/мл) не выявлено статистически достоверных различий в значении митотического индекса по сравнению с контрольными растениями. При этом изменение морфометрических показателей было незначительным: снижение сухой массы корней на 9% и 15% для растворов с концентрациями 0,1 и 1 мкг/мл соответственно. Таким образом, впервые для проростков пшеницы (*Triticum aestivum* L.) выявлены ответные реакции врожденной иммунной системы на обработку бактериальным флагеллином, свидетельствующие о наличии флагеллин-чувствительных рецепторов, входящих в состав системы, распознающей микроб-ассоциированные молекулы.

Установлено, что максимальной толерантной для проростков пшеницы концентрацией гликозилированного флагеллина азоспирилл является 1 мкг/мл (10 nM), что на 1-2 порядка выше описанных в литературе соответствующих концентраций негликозилированных бактериальных флагеллинов. Можно предположить, что присутствие углеводных фрагментов в молекулах флагеллинов является одним из важных факторов, необходимых для успешной колонизации растений, в том числе, и внутренних тканей (в частности, для эндофитного штамма KBC1). При этом ранее нами было показано, что липополисахарид (О-антиген) бактерий рода *Azospirillum* в концентрациях более 10 мкг/мл повышает функциональную активность корневых меристем и стимулирует рост проростков пшеницы сорта Саратовская 29. Так как, по результатам наших исследований, повторяющиеся звенья углеводных фрагментов липополисахаридов клеточной стенки и флагеллина полярных жгутиков каждого из исследованных штаммов азоспирилл имеют между собой значительное структурное сходство, проявление различных эффектов на развитие растение-партнера (стимулирующее или ингибирующее) связано, скорей всего, не с углеводными частями молекул, а с липидной и белковой соответственно. В то время как углеводные фрагменты этих молекул у бактерий рода *Azospirillum* в составе липополисахаридов способствуют лучшему росту растений, а в составе флагеллинов значительно снижают ингибирующее действие данных молекул.

Результаты этого исследования могут внести вклад в раскрытие молекулярных механизмов растительно-микробных взаимодействий, а также быть полезны при подборе микросимбионтов для растений при создании бактериальных удобрений.

ПРЕОДОЛЕНИЕ МОРФО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО ПОКОЯ В СЕМЕНАХ *CARDIOCRINUM GLEHNII* MAKINO

Overcoming morphophysiological dormancy in seeds of *Cardiocrinum glehnii* Makino

Бутузова О.Г., Торшилова А.А., Андронова Е.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ботанический институт им. В.Л.Комарова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия; OButuzova@binran.ru

Вид *Cardiocrinum glehnii* Makino (Liliaceae) относится к редким и исчезающим видам растений (ареал произрастания – о. Сахалин, Кунашир, Итуруп) и характеризуется морфо-физиологическим типом покоя семян (по классификации Николаевой, 1977), обусловленным недоразвитием зародыша и наличием физиологического механизма торможения (ФМТ) прорастания. В природе всходы появляются лишь на второй год. В лабораторных условиях требуется длительная предпосевная подготовка при воздействии различных температур для снятия покоя.

Проведен эксперимент по проращиванию семян *C. glehnii* при разных температурных режимах: постоянная температура 9-10°С, смена температур с 0-3°С на 9-10°С, с 9-10°С на 18-20°С, а также чередование 0-3°С, 9-10°С и 18-20°С. Сроки выдерживания семян на этих температурах также варьировались (с 2 недель до 2 месяцев). В итоге проведено 8 вариантов опыта по две выборки из 10 семян. Длина зародыша измерялась каждые 14 дней, результаты обрабатывались статистически.

В зрелых семенах *C. glehnii* зародыш мелкий (длина 0,5-0,6 мм), прямой, слабо дифференцирован на органы. Доразвитие его начиналось на всех вариантах опыта, и в первые две недели зародыш незначительно увеличивался в длину (на 0,2-0,3 мм). Однако в дальнейшем рост прекращался, и семена пребывали в состоянии покоя в течение 6-7 месяцев. Никакие смены температурных режимов на снятие покоя влияния не оказывали. Лишь по истечении данного срока всех вариантах опыта зародыш активно трогался в рост. Рост зародыша осуществлялся за счет гипокотиля и семядоли, причем последняя на поздних этапах доразвития изгибается внутри семени, превышая по длине эндосперм.

Раньше всего (через 6 мес. от начала опыта) процесс доразвития начинался на варианте со сменой высоких и пониженных температур (9-10°С и 18-20°С), где семена длительное время находились в тепле. Процесс доразвития происходил постепенно, и только спустя 12 мес. от начала опыта зародыш достигал окончательных размеров (9-10 мм в длину). При постоянной температуре 9-10°С процесс доразвития начинался позже (через 7 мес), но осуществлялся более высокими темпами, и спустя 7,5 мес от начала проращивания зародыш был полностью сформирован. На остальных вариантах опыта со сменой трех температур наблюдались промежуточные показатели. При переносе семян с 0-3°С на 9-10°С доразвития не наблюдалось, однако после переноса семян в тепло (18-20°С) зародыш трогался в рост, и его формирование продолжалось теми же темпами, что и на варианте со сменой высоких и пониженных температур. Предварительная обработка семян $ГК_3$ практически не влияла на темпы доразвития зародыша.

На основании полученных данных по доразвитию зародыша *C. glehnii* можно сделать вывод, что покой семян у этого вида настолько глубок, что не подвержен воздействию температурного и гормонального факторов. Смены температурных режимов не снимают ФМТ доразвития зародыша, который остается в состоянии покоя в течение 6-7 мес, что соответствует продолжительности холодного периода в естественных условиях произрастания.

Повышенные температуры (18-20°С) оказывают положительное воздействие, стимулируя начало роста зародыша. С другой стороны, при пониженных температурах (9-10°С) доразвитие осуществляется наиболее быстрыми темпами. Длительное пребывание на низких температурах (0-3°С) тормозит доразивтие. В комбинациях с переменными температурами зародыш лучше развивается в тех вариантах, где преобладают высокие и пониженные температуры, причем воздействие каждого из температурных режимов должны быть достаточно продолжительным.

Семена *C. glehnii*, использованные в опыте, хранились в течение 3 лет после сбора с растений, интродуцированных в Ленинградской области. Вероятно, это повлияло на ФМТ прорастания семян. После окончательного доразвития зародыша и дальнейшего переноса семян на различные температуры, прорастания ни на одном из вариантов в рамках данного эксперимента не наблюдалось. Сформированные зародыши были изолированы и посажены в культуру. Таким образом, удалось получить жизнеспособные проростки и преодолеть физиологический механизм торможения прорастания.

Работа поддержана грантом Президента РФ «Ведущие научные школы Российской Федерации» (2014-2015 гг., № НШ-5282.2014.4).

О ВИДОВОМ СОСТАВЕ И ПРЕДЕЛАХ ВЫНОСЛИВОСТИ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ В КОРНЯХ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ В ГОРОДСКОЙ СРЕДЕ

On the species composition and tolerance limits of microscopic fungi in roots of trees in the urban environment

Бухарина И.Л.

Удмуртский государственный университет, Ижевск, Россия; buharin@udmlink.ru

Древесные растения, произрастающие в условиях урбаносреды, являются своеобразными модельными растениями, позволяющими изучать систему адаптивных реакций к техногенному стрессу. Устойчивость этих растений формируется на разных уровнях организации: биохимическом, физиологическом, организменном, онтогенетическом, популяционном и на уровне взаимодействия с организмами других систематических групп. Менее изученной является роль взаимоотношений древесных растений и микроскопических грибов в формировании механизмов адаптации и устойчивости растений в техногенной среде. В природе образование микоризы у растений является правилом, а отсутствие – редким исключением. Установлено, что у 85% всех изученных видов растений присутствует микориза. Значительное количество работ (в основном на примере сельскохозяйственных малолетних культур, декоративных культур) посвящено проявлению симбиотических связей растений с эндотрофными грибами на физиолого-биохимическом уровне, и прежде всего через процессы поглощения, транспорта и аккумуляции химических элементов растениями (Gerdemann, 1975; Manjunath, Habte, 1988; Bolan, 1991; Koide, Schreiner, 1992; Bethlenfalvay, Cantrell, Mihara, Schreiner, 1998; Tsang, Maun, 1999).

Целью наших исследований являлось изучение видового состава микроскопических грибов, выделенных из корневой системы древесных растений, произрастающих в городской среде, и определение пределов выносливости изолятов грибов в условиях воздействия разных концентраций химических веществ.

Исследования проводятся в крупном промышленном центре Уральского региона – Ижевске. Объекты исследования – древесные растения (*Acer negundo* L., *Acer platanoides* L., *Betula pendula* Roth), произрастающие в различных структурно-функциональных типах насаждений. В качестве зоны условного контроля выбрана территория городского парка (ЦПКиО им. С.М. Кирова) площадью 113 га с компактной нерасчлененной конфигурацией. В местах произрастания растений отбирали пробы почвенных грунтов (для определения агрохимических и физических свойств) и одновременно – забор образцов корневой системы растений. Отбор проводился в апреле и в сентябре в периоды формирования всасывающих корневых волосков и инокуляции корневой системы растений микоризообразующими грибами. В лабораторных условиях проводили стерилизацию и сушку корней. В лаборатории Лейбницкого института овощных и декоративных культур (г. Гроссберин, Германия) проводился анализ ДНК почвенных проб и образцов корневой системы.

Результаты исследований показали, что почвы в зоне условного контроля отличаются низким уровнем загрязнения (использован суммарный показатель загрязнения почвы (СПЗ), рассчитанный как сумма коэффициентов концентрации, т.е. сумма отношения содержания каждого элемента в исследуемой почве к фоновой концентрации). В магистральных посадках уровень загрязнения почв оценивается как умеренно опасный, а в районе предприятия «Ижсталь» – как опасный.

Результаты показали, что наибольшее видовое разнообразие микроскопических грибов характерно для почв насаждений санитарно-защитной зоны предприятия «Ижсталь». Здесь же обнаружены эндотрофные микоризообразующие грибы в корнях *Betula pendula u Acer negundo*. У *Acer platanoides* эндотрофные грибы обнаружены в магистральных посадках ул. Удмуртская. Необъяснимым пока остается тот факт, что обнаружить эндотрофные грибы в условно чистых почвах и корнях растений, произрастающих в парковой зоне, пока не удалось. Этот факт позволяет предполагать наличие взаимосвязи между устойчивостью древесных растений к техногенному стрессу и наличием симбиотических связей с эндотрофными грибами.

Выделенные изоляты грибов были протестированы на устойчивость к действию хлорида натрия. Оценивался рост мицелия грибов, произрастающих на агаре с внесением хлорида натрия в концентрациях 0,5, 1,0 и 1,5 моль·л$^{-1}$. Хлорид натрия вызвал временное угнетение роста мицелия, но у ряда изолятов, через 1-2 недельный адаптационный период, наблюдался рост мицелия. Отдельные изоляты грибов после двух месяцев наблюдений не отличались от контрольных образцов. Был выделен и уникальный изолят, у которого хлорид натрия в концентрациях 0,5 и 1 моль·л$^{-1}$стимулировал рост мицелия и переход к спороношению. На наш взгляд, данные эксперименты имеютперспективы использования изолятов грибовдля инокуляции растений и повышения солеустойчивости растений.

АНАЭРОБНЫЙ СТРЕСС РАСТЕНИЙ КАК НОВОЕ НАПРАВЛЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ В ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ

Plant anaerobic stress as a new avenue of research in ecological biology and biotechnology

Вартапетян Б.Б.

Институт физиологии растений имени К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия; borvarta@mail.ru

Анаэробный стресс растений, т.е. жизнь растения в условиях низкого содержания (гипоксия) или полного отсутствия (аноксия) кислорода в среде их обитания является широко распространенным негативным экологическим явлением на нашей планете, который наносит существенный экономический ущерб многим странам. Несмотря на актуальность этой проблемы, фундаментальные научные исследования в этой области, в отличие от других экологических стрессов растений (низкая и высокая температура, солевой и биологические стрессы), были начаты лишь сравнительно недавно. Тем не менее, проведенные к настоящему времени активные исследования в этой области науки существенно продвинули наши представления о механизмах как повреждения, так и адаптации растений в условиях гипоксии и аноксии. Основой развития этого направления науки послужила концепция о двух главных стратегиях адаптации растений анаэробному стрессу: (1) адаптация на молекулярном уровне, в которой ключевую роль играет анаэробный энергетических метаболизм клеток растений и (2) адаптация на уровне целого растения благодаря дальнему транспорту кислорода из аэрируемых частей растения в органы, локализованные в анаэробной среде, т. е. стратегия избегания анаэробиоза.

Опираясь на концепцию о двух главных стратегиях адаптации растений к анаэробному стрессу, выдвинутую на основе фундаментальных исследований, в последнее десятилетие были разработаны ряд удачных биотехнологических подходов (клеточная селекция in vitro и генная инженерия) создания растительных клеток и целых растений, толерантных к анаэробному стрессу.

Проблемы анаэробного стресса растений получила стремительное развитие в многочисленных научных центрах и университетах мира .Анализ достигнутых к настоящему времени успехов в этой области исследований позволяет сделать заключение о становлении нового направления исследований как в области экологической биологии, так и биотехнологии. Лидирующая роль российской науки в создании этого нового направления получила широкое международное признание и в связи с этим была особо отмечена в специальном постановлении Президиума Российской академии наук.

ПРИМЕНЕНИЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ТОЛЕРАНТНЫХ К АНАЭРОБНОМУ СТРЕССУ РАСТЕНИЙ

Application of biotechnological methods to produce plants tolerant to anaerobic stress

Вартапетян Б.Б., Степанова А.Ю., Терешонок Д.В., Миляева Э.Л., Долгих Ю.И.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; gsc@ippras.ru

С целью повышения устойчивости растений к гипоксии и аноксии апробированы новые биотехнологические подходы, разработанные на основе более ранних фундаментальных исследований в области анаэробиоза, а именно на концепции о двух главных стратегиях адаптации растений к анаэробному стрессу. В основу одного из таких подходов легли результаты исследований, показавшие ключевую роль анаэробного энергетического метаболизма (гликолиз и брожение), а также метаболизма углеводов в адаптации растений к анаэробному стрессу. Исходя из этих представлений путем селекции in vitro в отсутствие экзогенных углеводов получены клеточные линии сахарного тростника *Saccharum officinarum* L. и пшеницы *Triticum aestivum* L, более толерантные к аноксии, чем исходные каллусные клетки. Из толерантных клеток *T. aestivum* L. были затем регенерированы растения, которые, как показало выращивание на затопленной почве, оказались устойчивыми и к почвенному анаэробиозу.

В основу другого биотехнологического подхода, также успешно использованного для получения растений, толерантных к почвенному затоплению, был положен широко известный факт, а именно: затопление почвы на ранних этапах приводит к увяданию и старению надземных органов растений, а затем уже к их гибели. С другой стороны, хорошо известно, что старение растений в определенной степени регулируется гормонально: цитокинины существенно способствуют омоложению стареющих надземных органов. Учитывая эти обстоятельства, была сделана попытка усилить потенциальную способность растений к синтезу цитокинина и тем самым повысить их устойчивость к анаэробному стрессу путем переноса в растение бактериального гена изопентенилтрансферазы (*ipt*), ответственного за синтез этого гормона. Растения пшеницы, экспрессирующие гетерологичный ген *ipt,* в условиях корневого затопления проявили более высокую жизнеспособность и продуктивность, чем исходные формы.

Другая стратегия адаптации растений к гипоксии и аноксии – это избегание анаэробиоза благодаря формированию в корнях межклеточных пространств (аэренхимы) в результате программированной гибели (апоптоза) определенной части клеток. Аэренхима существенно облегчает дальний транспорт кислорода из аэрируемых надземных органов растений в корни и корневище, которые находятся в анаэробной среде, обеспечивая тем самым способность этих растений выживать даже на затопленных почвах. В связи с этим представляет интерес недавно открытая апоптотическая протеаза – фитаспаза, вовлеченная в программированную смерть клеток растений, т.е. в тот самый процесс, благодаря которому образуется аэренхима. В условиях затопления почвы полученные трансгенные растения табака с повышенной экспрессией гена фитаспазы имели увеличенные размеры межклеточных пространств в корнях и продемонстрировали более высокую устойчивость к гипоксии.

Результаты проведенных биотехнологических исследований подтвердили концепцию о двух главных стратегиях адаптации растений к анаэробному стрессу, выдвинутую ранее на основании фундаментальных исследований явления гипоксии и аноксии растений.

ОСОБЕННОСТИ СЕЗОННОЙ ДИНАМИКИ ДЕГИДРИНОВ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ФОРМИРОВАНИЕМ МОРОЗОУСТОЙЧИВОСТИ *BETULA PENDULA* ROTH В УСЛОВИЯХ КАРЕЛИИ И ЯКУТИИ

Features of seasonal dynamics of *Betula pendula* Roth dehydrins associated with the formation of cold hardiness in Karelia and Yakutia

Васильева И.В.[1], Татаринова Т.Д.[1], Бубякина В.В.[1], Ветчинникова Л.В.[2], Перк А.А.[1], Пономарев А.Г.[1]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологических проблем криолитозоны Сибирского отделения Российской академии наук, Якутск, Республика Саха (Якутия), Россия; anaponomarev@yandex.ru*

[2] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт леса Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия; vetchin@krc.karelia.ru*

Береза повислая (*Betula pendula* Roth) – древесный вид с обширным ареалом в Евразии, обладает высокой экологической пластичностью. В формировании оптимального уровня ее низкотемпературной устойчивости в разных климатических условиях, по всей вероятности, принимают участие и стрессовые белки. Среди них особое место занимают сезонно-изменяющиеся дегидрины, связанные с клеточной дегидратацией.

Целью настоящей работы явился сравнительный анализ особенностей полиморфизма дегидринов и их сезонной динамики в почках березы повислой, произрастающей в контрастных по климату условиях Карелии и Центральной Якутии.

Регионы исследований – Республика Карелия и Центральная Якутия – располагаются на одной и той же широте в условиях Крайнего Севера (62° с.ш.), но удалены в долготном направлении почти на 5 тыс. км, что обуславливает четкие различия между ними по климатическим факторам. Карелия относится к зоне умеренно континентального климата с переходом к морскому, где средняя температура января составляет от -6°С до -13°С (возможны возвратные потепления). Центральная часть Республики Саха (Якутия) располагается в условиях резко континентального климата, где средняя температура января составляет от -35°С до -42°С (зима без возвратных потеплений). Кроме того, Якутия характеризуется повсеместным распространением многолетней мерзлоты, которая отсутствует в Карелии. Объектом исследования служили почки березы повислой (*B. pendula*), сбор которых осуществляли ежемесячно в период 2009–2013 гг. одновременно на экспериментальных площадках в Карелии (г. Петрозаводск, 62° с.ш., 35° в.д.) и Центральной Якутии (г. Якутск, 62° с.ш., 130° в.д.). Электрофорез белков проводили в 13.5% ДДС-ПААГ. Для иммунодетекции дегидринов использовали поликлональные антитела против консервативного К-сегмента («Agrisera», Швеция).

Результаты исследований показали, что дегидрины почек изученных берез, независимо от места их произрастания, группируются преимущественно в низкомолекулярной (от 14 до 21 кДа) и среднемолекулярной (от 56 до 73 кДа) областях. Вместе с тем, на основании сравнительного анализа полученных спектров более выраженный полиморфизм дегидринов обнаружен в почках берез, произрастающих в Центральной Якутии. Для растений обеих популяций характерно наличие низкомолекулярного 17 кДа дегидрина, хотя его уровень был существенно выше у берез в Якутии. Отдельные растения имели также и другие мажорные дегидрины (14, 15, 18 и 21 кДа), не найденные в почках берез, произрастающих в Карелии. Дегидрины почек берез изученных популяций проявляют сходство и в динамике сезонных изменений. Так, среднемолекулярные дегидрины (56-73 кДа) были представлены круглогодично, а низкомолекулярные (преимущественно 17 кДа), напротив, имели выраженную динамику: полностью исчезали в начале вегетации и вновь обнаруживались при подготовке растений к покою. В дальнейшем в почках берез обеих популяций содержание дегидринов повышалось, достигая максимальных значений к началу зимы, и стабильно сохранялось на относительно постоянном уровне. В апреле-мае наблюдался их спад и полное исчезновение. При этом, накопление низкомолекулярных дегидринов в конце лета – начале осени (август-сентябрь), а затем их спад в весенний период как по динамике, так и по объему более интенсивно происходили в почках якутских берез по сравнению с карельскими. Возможно, это обусловлено климатическими особенностями регионов и степенью их континентальности.

Таким образом, в результате исследований выявлены особенности индивидуального полиморфизма дегидринов и их сезонных изменений в почках березы повислой, произрастающей в контрастных климатических условиях Карелии и Центральной Якутии. На основании стабильно высокого уровня низкомолекулярных дегидринов в течение зимнего периода можно с высокой долей уверенности предположить об их участии в общих механизмах формирования морозоустойчивости растений в условиях Крайнего Севера и местностях, приравненных к ним. Сезонное накопление (к началу глубокого покоя) низкомолекулярного 17 кДа дегидрина свидетельствует о возможности его использования в качестве непрямого маркера криорезистентности древесных растений.

ПРОДУКЦИОННАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ РАСТЕНИЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УСЛОВИЙ КОРНЕВОГО ПИТАНИЯ (ПРИМЕНИТЕЛЬНО К ЗАМКНУТЫМ ЭКОСИСТЕМАМ)

Plant production activity depending on conditions of roots nutrition (as applied to closed ecological systems)

Величко В.В., Тихомиров А.А., Ушакова С.А., Трифонов С.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биофизики Красноярского научного центра Сибирского отделения Российской академии наук, Академгородок, Красноярск, Россия
vladimir_velitchko@hotmail.com

Для повышения степени замкнутости массообменных процессов в искусственных замкнутых экосистемах (ЗЭС) должна быть организована регенерация необходимых для роста растений элементов минерального питания из отходов растительного происхождения и экзометаболитов человека. При этом следует учитывать, что продукционная деятельность растений зависит не только от количества доступных для корневого питания минеральных элементов, но и от их соотношения. В Институте биофизики были разработаны технология получения почвоподобного субстрата (ППС), которая относится к технологиям получения органического удобрения «вермикомпост» или «биогумус» и физико-химический метод минерализации органических отходов в среде перекиси водорода в переменном магнитном поле. ППС может выполнять две основные функции в ЗЭС: 1) используется как корнеобитаемый субстрат для выращивания растений и 2) является звеном-минерализатором. Как показали ранее проведенные эксперименты, многократное использование одного и того же ППС с периодическим внесением в него несъедобной растительной биомассы приводило к постепенному снижению продуктивности растений. Процесс снижения продуктивности растений может быть связан с несогласованностью в скорости высвобождаемых минеральных веществ в ходе биологического окисления растительных остатков в ППС и потребностями выращиваемых растений. Поэтому с целью оптимизации условий минерального питания растений по критерию максимизации их продукционной деятельности при включении в массообменные процессы ЗЭС отходов растительного происхождения было исследовано влияние различных способов внесения растительных отходов в ППС на продуктивность тестовой культуры - редиса (*Raphanus sativus* L.) сорта «Моховский». Влияние технологии внесения растительных отходов было оценено в условиях, максимально приближенных к условиям выращивания растений в ЗЭС. Способы внесения растительных отходов были следующими: контроль – в ППС и в ирригационный раствор ничего не вносили; опыт А – в ППС были внесены измельченная несъедобная биомасса выращенного редиса и солома пшеницы, содержание азота в которой было равно содержанию азота в убранных корнеплодах; опыт Б – в ППС была внесена измельченная несъедобная биомасса выращенного редиса, а в ирригационный раствор – жидкие продукты минерализации физико-химическим методом соломы пшеницы; опыт В – в ирригационный раствор были внесены жидкие продукты минерализации физико-химическим методом несъедобной биомассы выращенного редиса и соломы пшеницы. Количество соломы пшеницы, подвергнутой минерализации в вариантах Б и В, было таким же, как в варианте А.

В результате проведенной работы по оптимизации условий минерального питания растений по критерию максимизации их продукционной деятельности при включении в массообменные процессы ЗЭС отходов растительного происхождения, установлено, что оптимальным способом внесения растительных отходов с низким содержанием лигнина (несъедобная биомасса редиса) было их прямое внесение в почвоподобный субстрат перед посевом следующего поколения, а отходов растений с высоким содержанием лигнина (солома пшеницы) в виде постепенного внесения жидких продуктов минерализации физико-химическим методом в ирригационный раствор для полива растений. При этом не наблюдалось влияния способа внесения растительных отходов на минеральный и биохимический состав выращенных растений редиса.

Работа была выполнена в рамках гранта Российского Научного Фонда (грант №14-14-00599).

ВЛИЯНИЕ АБСЦИЗОВОЙ КИСЛОТЫ НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ ХЛОРОПЛАСТОВ И ХОЛОДОУСТОЙЧИВОСТЬ ПШЕНИЦЫ

Effect of abscisic acid on chloroplast ultrastructure and cold tolerance of wheat

Венжик Ю.В., Таланова В.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия; Jul.Venzhik@gmail.com

Абсцизовая кислота (АБК), которую часто называют гормоном стресса, играет важную роль в механизмах адаптации растений к различным неблагоприятным факторам среды, включая низкие температуры. В условиях охлаждения этот гормон способствует дополнительному увеличению холодоустойчивости растений и оказывает стабилизирующее действие на функциональную активность фотосинтетического аппарата. Однако исследования, позволяющие судить об ультраструктурных изменениях, происходящих в хлоропластах под влиянием АБК, пока малочисленны. С целью изучения такого рода изменений и их значения для растений мы исследовали влияние экзогенной АБК (0.1 мМ) на ультраструктуру хлоропластов и холодоустойчивость листьев пшеницы при 22°С и в процессе холодового закаливания (4°С).

В качестве объекта использовали недельные проростки озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Московская 39. Электронно-микроскопическое исследование ультраструктуры хлоропластов проводили по стандартной процедуре. О холодоустойчивости листьев судили по температуре ($ЛТ_{50}$), вызывающей гибель 50% палисадных клеток листовых высечек после их 5-мин промораживания в микрохолодильниках.

Проведенные исследования показали, что экзогенная АБК как при 22°С, так и при 4°С вызывает ряд ультраструктурных изменений в хлоропластах пшеницы. Некоторые из них (уплотнение стромы хлоропластов, появление «извилистых» и «разбухших» тилакоидов, инвагинаций, изменение формы хлоропластов и увеличение их размеров за счет площади стромы) были общими для обеих температур. Кроме того, экзогенная АБК индуцировала ряд изменений в мембранной системе хлоропластов, но направленность этих изменений зависела от температурных условий. Так, под влиянием АБК при 22°С существенно увеличивалась общая длина фотосинтетических мембран в хлоропласте, а характер изменения коэффициента гранальности свидетельствовал о почти равномерном увеличении как длины гранальных мембран, так и длины мембран тилакоидов стромы. В отличие от этого, в условиях охлаждения АБК не вызывала достоверного увеличения длины мембран в хлоропласте, но приводила к увеличению коэффициента его гранальности, то есть преобладанию длины мембран тилакоидов в гранах над длиной мембранам тилакоидов стромы. Важно, что ультраструктурные изменения, происходящие в хлоропластах пшеницы под влиянием АБК, сопровождались существенным увеличением холодоустойчивости растений. Но если при 22°С прирост устойчивости под влиянием АБК в основном происходил в первые сутки опыта, то при холодовом закаливании устойчивость растений в присутствии гормона возрастала в течение всего эксперимента, а ее максимальный прирост был в три раза выше, чем при 22°С.

Таким образом, увеличение холодоустойчивости растений под влиянием АБК связано с ультраструктурными изменениями хлоропластов, направленными на защиту растительных клеток от повреждающего действия низкой температурой и поддержание фотосинтетического аппарата растений в активном состоянии.

УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ ХЛОРОПЛАСТОВ В ЛИСТЬЯХ ПШЕНИЦЫ В ПРОЦЕССЕ АДАПТАЦИИ К ХОЛОДУ

Ultrastructural transformation of chloroplasts in wheat leaves during cold adaptation

Венжик Ю.В., Таланова В.В., Титов А.Ф.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия; Jul.Venzhik@gmail.com

Хлоропласты растительных клеток одними из первых реагируют на понижение температуры, выступая в качестве своеобразных высокочувствительных «сенсоров» низкотемпературного сигнала и запуская каскад ответных реакций растительного организма, включающий, в том числе, их собственную ультраструктурную трансформацию. В связи с этим в задачу нашего исследования входило изучение динамики ультраструктурных изменений в хлоропластах листьев озимой пшеницы, а также фотосинтетической активности и холодоустойчивости растений в процессе их низкотемпературного закаливания (при температуре 4°С).

В результате исследования установлено, что небольшое, но достоверное повышение холодоустойчивости растений пшеницы с. Московская 39 происходит уже через 1 ч от начала закаливания, и оно продолжается в течение 6–7-и сут. Практически одновременно с этим (уже в самом начале холодового воздействия) наблюдалась ультраструктурная реорганизация хлоропластов: существенно увеличивались их размеры и площадь стромы, отмечено уплотнение стромы и возрастание количества пластоглобул в ней. Параллельно с этим трансформировалась мембранная система хлоропластов, в которых формировались граны с небольшим количеством тилакоидов. Снижение коэффициента гранальности хлоропластов, происходящее при этом, свидетельствует о преобладании длины мембран тилакоидов стромы над мембранами тилакоидов в гранах. Существенно, что ультраструктурная трансформация хлоропластов происходила в течение всего процесса закаливания, в результате чего в клетках листьев пшеницы формировались хлоропласты с новой структурной организацией, адаптированной к пониженным температурам.

Наблюдаемая ультраструктурная перестройка пластид сопровождалась определенными изменениями в фотосинтетической активности растений. Интенсивность фотосинтеза, скорость электронного транспорта и содержание фотосинтетических пигментов несколько снижались в первые часы низкотемпературного воздействия, но затем эти показатели стабилизировались, а содержание хлорофиллов даже несколько возрастало (за счет доли пигментов в светособирающем комплексе).

В целом полученные данные позволяют заключить, что под влиянием низкой закаливающей температуры в хлоропластах растений пшеницы происходит значительная ультраструктурная трансформация, носящая адаптивный характер и направленная на поддержание их фотосинтетической активности. Очевидно, что подобные изменения в структурной организации хлоропластов играют важную роль в холодовой адаптации растений и являются необходимым звеном в процессе формирования их холодостойкости.

КРИОКОНСЕРВАЦИЯ – СОВРЕМЕННЫЙ МЕТОД СОХРАНЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ КОЛЛЕКЦИЙ РАСТЕНИЙ, РАСТУЩИХ В УСЛОВИЯХ ВЛИЯНИЯ ПРИРОДНО-КЛИМАТИЧЕСКИХ И АНТРОПОГЕННЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ

Cryoconservation as a modern method to preserve genetic collections of plants growing under the conditions of natural, climatic and anthropogenic impacts

Вержук В.Г.[1], Павлов А.В.[1], Шубин Н.А.[2]

[1] *Всероссийский институт растениеводства им. Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия; vverzhuk@mail.ru*
[2] *Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия; shubin_n@inbox.ru*

При постоянном воздействии на жизнь растений неблагоприятных климатических, экологических и антропогенных факторов нет гарантии сохранения уникальных генотипов и созданных мировых коллекций в открытой природе. В постановлении Конвенции по биоразнообразию отражено, что сохранение биологического мира от исчезновения возможно двумя путями: in situ, т.е. в естественных условиях – в лесах, лугах, полях, садах и ягодниках и *ex situ* – в созданных человеческим трудом и заложенных на хранение в заповедниках, коллекционных садах и ягодных насаждений, генетических банках животных, рыб, растений, микроорганизмов и т.д. Большая часть растений может храниться в генетических банках в виде семян при небольшой отрицательной температуре, обеспечивающей высокую жизнеспособность в течение десятилетий (Филипенко, 2007). Также, наряду с этим, существуют растения для которых применение низкой и сверхнизкой температуры (криоконсервирование) является возможным и перспективным – это вегетативно размножаемые культуры, которые при семенном размножении теряют признаки материнского растения. Поэтому для них, а сюда входит большая часть плодовых культур, перспективным является криоконсервация вегетативных частей растений (однолетние побеги, почки, пыльца и меристемы) в жидком азоте или его парах при температуре -183°C...-185°C (Forsline et. al., 1998; Вержук и др., 2009). В основе достижений по криоконсервации живых организмов лежат работы многочисленных исследователей, изучавших сложные клеточные системы, изменяющиеся под влиянием охлаждения, льдообразования и эффектов, сопровождающих эти процессы (Шубин, 2008). Криоконсервация являет собой сложный многоэтапный процесс, который проводит экспериментатор с целью сохранить живыми клетки, ткани, органы в глубоком холоде в состоянии анабиоза (скрытой жизни) (Попов, 2008). Например, неглубокое замораживание семян не вызывает изменения его состояния. При температуре ниже -100°C происходит дегидратация мембран (Белоус, Грищенко, 1994), что изменяет организацию их бислойной структуры и повышает температуру фазового перехода жидкий кристаллгель, ведущую к нарушению барьерных свойств (Хукстра, Головина, 1999). Устойчивость к криоконсервации зависит от способности к восстановлению мембран после оттаивания и условий регидратации (Белоус, Грищенко, 1994). В наших исследованиях по криоконсервации побегов, почек и др. частей растений за основу был взят метод, разработанный Форслайном (Forsline et.al., 1998) для спящих почек яблони. Этот метод опробован и совершенствован нами и на других плодовых и ягодных культурах, таких как груша, вишня, черешня, черемуха, смородина, крыжовник, жимолость и были получены положительные результаты. Одногодичные черенки заготавливали (нарезали) в коллекционных садах в ноябре-декабре месяце, перед закладкой на хранение в азот подсушивали, убирая губительную влагу, до 28-32% в древесине и постепенно замораживали до -80-90°C. После хранения в парах азота черенки размораживали и определяли их жизнеспособность проведением прививок и окулировок на выращенных подвоях или в крону деревьев. Черенки таких культур, как смородина, крыжовник, жимолость, черемуха высаживали непосредственно в почву.

Оценка жизнеспособности черенков после прививки и высадки в грунт указала на зависимость ее от конкретного сорта и места проведения опыта (так как черенки были взяты в разных экологических зонах). В разные годы вегетации растений цифровые значения жизнеспособности привитых черенков и почек колебались от 35 до 89%. Интересные результаты были получены при работе с консервированной пыльцой плодовых культур. Контроль жизнеспособности пыльцы после хранения в азоте проводили непосредственно перед проведением опыления при скрещивании различных сортов. Результаты пятилетнего хранения пыльцы показали, что ее жизнеспособность не изменяется по сравнению с исходной и снижается в очень редких случаях. У некоторых сортов сливы, яблони и земляники жизнеспособность пыльцы даже увеличивалась после хранения в азоте по сравнению с исходной свежесобранной пыльцой (Вержук и др., 2005). Изучение оплодотворяющей способности пыльцы после хранения в парах азота на трех сортах смородины показало, что завязываемость ягод во всех вариантах скрещивания была высокой и составила до 94-100% (Вержук и др., 2007), что и подтверждает эффективность хранения пыльцы в азоте. Достигнутые нами показатели жизнеспособности растительных объектов у образцов плодовых и ягодных культур на уровне 35-94% дают основание считать, что такие и другие образцы, потерянные в результате негативных последствий среды обитания могут быть восстановлены после их криоконсервации.

ТРАНСГЕННЫЕ ТОМАТЫ С ПОВЫШЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ФУЗАРИОЗАМ

Transgenic tomatoes with increased resistance to *Fusarium*

Вершинина З.Р., Благова Д.К., Нигматуллина Л.Р., Лавина А.М., Баймиев Ал.Х., Чемерис А.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа, Республика Башкортостан, Россия; zilyaver@mail.ru

Томат *(Lycopersicon esculentum*) является важнейшей сельскохозяйственной культурой, которая возделывается почти во всех регионах России. Однако различные заболевания грибковой природы способствуют резкому падению урожайности данных растений. Фузариозное увядание томатов – довольно распространенное и опасное заболевание – поражает в основном растения, выращиваемые в закрытом грунте в монокультуре и без обеззараживания почвы. Борьба с фузариозом обычно включает использование широкого ряда пестицидов, которые потенциально представляют опасность как для окружающей среды, так и для здоровья человека. Экологически ориентированное сельское хозяйство предполагает альтернативные меры борьбы, в том числе и использование микроорганизмов, обладающих защитными свойствами, например, таких как ризобии. Эти бактерии могут вступать в ассоциативные взаимоотношения и с небобовыми культурами, в том числе и томатом, колонизируя корни без образования клубеньков и способствуя повышению урожайности за счет различных механизмов, в том числе защищая от фитопатогенных грибов.

Однако колонизация «полезными» ризобиями корней небобовых растений зачастую достаточно эффективна лишь в лабораторных условиях, а в природе эти бактерии не выдерживают конкуренции с «дикими» штаммами и обычно полностью замещаются. Существуют различные способы для того, чтобы придать растениям способность контролировать бактериальный состав своей ризосферы, в том числе создание трансгенных растений, экспрессирующих гены, участвующие в узнавании и прикреплении ризобий к корням. К таким генам относятся гены лектинов бобовых растений, продукты которых прикрепляют ризобии к корневым волоскам и оказывают опосредованное влияние на процессы, протекающие на разных этапах формирования симбиоза. Ранее уже были получены положительные результаты по колонизации данными бактериями модельных небобовых растений, корни которых были трансгенны по гену лектина гороха посевного *psl*. Следующим этапом стало получение полностью трансгенных по данному гену растений томата.

Была проведена агробактериальная трансформация томатов сорта Белый налив 241 и сорта Грунтовый Грибовский 1180 геном лектина гороха посевного *psl*. Эффективность трансформации составила 2% и 2,5% соответственно. Корни контрольных и трансгенных растений томата инкулировали суспензией фунгистатического штамма *R. leguminosarum* (который узнает лектин на поверхности корней) и культивировали в субстрате, который содержал споры *F. oxysporum f.sp. lycopersici* (фитопатоген томата).

Выживаемость трансгенных растений томата, обработанных бактериями, на зараженной спорами почве после 1 месяца культивирования составила 74% и 81% (для сортов Белый налив 241 и Грунтовый Грибовский 1180 соответственно), по сравнению с контрольными растениями, также обработанными бактериями, для которых данные показатели были 51% и 48% (для сортов Белый налив 241 и Грунтовый Грибовский 1180 соответственно). При этом в вариантах опытов, где отсутствовала обработка бактериями, культивирование трансгенных и контрольных растений в зараженной спорами почве приводило к тому, что почти все растения погибали, и процент выживших был незначительным.

На основании полученных результатов можно сделать вывод, что интеграция в геном небобовых растений генов лектинов бобовых потенциально может повысить устойчивость растений к фузариозам, благодаря повышенной колонизации этих растений обладающими фунгистатическими свойствами ризобиями, узнающими лектин на поверхности корней.

РАЗВИТИЕ СИСТЕМНОЙ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ К ГЕМИБИОТРОФНОЙ ИНФЕКЦИИ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ КОМПОЗИЦИЙ БАКТЕРИАЛЬНОГО ШТАММА *BACILLUS SUBTILIS* 26Д С САЛИЦИЛОВОЙ И ЖАСМОНОВОЙ КИСЛОТАМИ

Compositions of the bacterial strain *Bacillus subtilis* 26 D with salicylic and jasmonic acids support systemic resistance of wheat plants to the gemibiotrophic infection

Веселова С.В.[1], Архипова Т.Н.[2], Нужная Т.В.[1], Максимов И.В.[1]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа, Россия; veselova75@rambler.ru*
[2] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа, Россия; tnarkhipova@mail.ru*

Применение стимулирующих рост растений бактерий (СРРБ) в качестве экологически безопасных биопрепаратов представляется привлекательным, так как в дополнение к своей ростстимулирующей активности, эти бактерии способны обеспечивать высокий иммунный статус растений и повышать их неспецифическую устойчивость к широкому спектру патогенов, т.е. запускать системную индуцированную устойчивость (СИУ). Защитные реакции, возникающие в растениях при развитии системной устойчивости, связаны с синтезом сигнальных молекул (салициловой (СК) и жасмоновой (ЖАК) кислотами) и направлены на предотвращение развития и распространения патогена за счет генерации активных форм кислорода (АФК) и упрочнения клеточной стенки благодаря синтезу лигнина. Кроме того, СИУ предполагает индукцию экспрессии ряда генов защитных PR-белков (pathogenesis related-proteins), которая находится под контролем гормонов. Обработка СРРБ подготавливает растения к атаке патогенов и создает условия для более быстрой и сильной активации защитных механизмов. К сожалению, до сих пор нет точного объяснения механизма запуска СРР бактериями защитной системы растений-хозяев, поэтому чтобы расшифровать защитную роль регуляторов, продуцируемых СРРБ, нужно учитывать сложные взаимодействия между сигнальными молекулами и применяемыми бактериями.

В данной работе было изучено влияние эндофитного штамма *B. subtilis* 26Д, сигнальных молекул СК, ЖАК и их композиций с бактерией на генерацию пероксида водорода (H_2O_2) – как первую защитную реакцию растений на проникновение патогена, а также активность ферментов про-/антиоксидантной системы – пероксидазы (ПО) и каталазы (КАТ), транскрипционную активность ряда генов PR-белков и эндогенное содержание гормонов (цитикининов, абсцизовой кислоты (АБК) и индолилуксусной кислоты (ИУК)) в растениях пшеницы, инфицированных гемибиотрофным грибом *Septoria nodorum* Berk. Наши исследования показали, что обработка сигнальными молекулами (СК, ЖАК) и *B. subtilis* 26Д в отдельности увеличивала устойчивость растений пшеницы к септориозу, за счет усиления генерации H_2O_2, повышения активности ПО, ингибирования активности КАТ и накопления транскриптов изучаемых генов защитных белков (глюканазы, хитиназы, пероксидазы). Эти процессы приводили к более интенсивной лигнификации клеточных стенок в зоне поражения и коррелировали со сдвигом гормонального баланса в сторону цитокининов, в результате чего мы наблюдали значительное уменьшение зон поражения и остановку роста патогена на листьях растений. При совместной обработке растений пшеницы бактериальным штаммом *B. subtilis* 26Д и СК наблюдался аддитивный эффект, при котором было обнаружено более высокое содержание зеатина (активной формы цитокининов) на начальных этапах инфицирования, чем в растениях обработанных только *B. subtilis* 26Д или только СК. Содержание АБК в таких растениях уменьшалось, а ИУК изменялось незначительно. Все это приводило к более интенсивному накоплению транскриптов PR-белков, генерации H_2O_2, повышению активности ПО и синтезу лигнина, что проявлялось в значительном уменьшении зон поражения. Интересно, что в композиции ЖАК+бактерия при инфицировании наблюдался ингибирующий эффект и устойчивость растений снижалась, как предполагается за счет снижения генерации H_2O_2, увеличения активности КАТ, ингибирования активности ПО и уменьшения накопления транскриптов PR-белков. Стоит отметить, что содержание цитокининов в таких растениях после инфицирования не увеличивалось, а концентрация АБК значительно повышалась, и критически уменьшался уровень ИУК. Таким образом, наши результаты дают основание предполагать, что накопление цитокининов в растениях играло важную роль в реализации механизмов, обеспечивающих их защиту от инфекции.

Работа выполнена при поддержке гранта Министерства образования и науки РФ № 14.604.21.0016 по приоритетному направлению «Науки о жизни» в рамках мероприятия 1.2 Программы (уникальный идентификатор (RFMEFI60414X0016)).

ВЛИЯНИЕ ЦИТОКИНИНОВ НА РАЗВИТИЕ ЗАЩИТНЫХ РЕАКЦИЙ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ ПРИ ГРИБНОМ ПАТОГЕНЕЗЕ

Involvement of cytokinins in the development of the defense response of wheat plants to fungal pathogens

Веселова С.В., Нужная Т.В., Максимов И.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа, Россия; veselova75@rambler.ru

Известно, что при атаке патогеном уровень гормонов в инфицированных тканях и в целом растении изменяется, но остается не до конца изученным вклад обоих организмов в эти изменения. В свете современных данных цитокининам (ЦК) наряду с основными гормонами первичного индуцированного защитного ответа - салициловой кислотой (СК), жасмоновой кислотой (ЖАК) и этиленом - отводят важную роль в регуляции иммунитета растений. Однако недавние исследования показали, что патогены способны снижать устойчивость растений, посредством модуляции гормонального сигналинга, а растения, в свою очередь, могут ослабить эти воздействия. Отсюда противоречия в данных о положительной или отрицательной роли гормонов при патогенезе. В системе растение-патоген ЦК раньше рассматривались только как гормоны, продуцируемые патогенами и необходимые для их питания и развития. Сейчас предполагают, что ЦК участвуют в регуляции защитных реакций растений против некоторых патогенов через индукцию синтеза СК. Также известно, что цитокинины индуцируют синтез некоторых защитных белков, фитоалексинов и принимают участие в процессах лигнификации. Вместе с тем, до сих пор остается неясным, с чем связано двуликое действие цитокининов, выступающих в качестве агента, как вирулентности, так и защиты.

В данной работе было изучено изменение содержания цитикининов в растениях пшеницы, инфицированных гемибиотрофным грибом *Septoria nodorum* Berk, под влиянием эндофитного штамма *Bacillus subtilis* 26Д и сигнальных молекул СК и ЖАК. Кроме того, было проанализировано влияние этого изменения на транскрипционную активность ряда генов защитных белков и лигнификацию клеточных стенок листьев растений пшеницы. В нашей работе были исследованы четыре сорта мягкой яровой пшеницы различные по устойчивости к данному патогену. Исследования показали, что обработка сигнальными молекулами (СК, ЖАК) и бактериальным штаммом *B. subtilis* 26Д увеличивала устойчивость восприимчивых сортов пшеницы к септориозу. В вариантах с обработками мы наблюдали значительное уменьшение зон поражения и остановку роста патогена на листьях инфицированных растений по сравнению с необработанным контролем. Это могло быть связано с более интенсивной лигнификацией клеточных стенок в зоне поражения и накоплением транскриптов изучаемых генов защитных белков (маркерного белка салицилатного пути *PR-1*, глюканазы (*PR-2*), хитиназы (*PR-3*) и лигнинобразующей пероксидазы (*PR-9*)). Устойчивость сорта коррелировала с ранним накоплением ЦК, тогда как восприимчивость сорта характеризовалась отсутствием этого накопления. Интересно, что как обработка СК, так и *B. subtilis* 26Д приводили к сильному повышению эндогенного уровня ЦК в инфицированных растениях, в отличие от обработки ЖАК.

На поздних этапах заражения у восприимчивых сортов также было обнаружено повышение уровня ЦК, но менее интенсивное, чем у устойчивых сортов. Однако такое накопление гормона не было связано с защитой от патогена. Мы не обнаружили у восприимчивых сортов ни накопления транскриптов изучаемых генов защитных белков, ни интенсивной лигнификации клеточных стенок. В дальнейшей работе нами был применен метод иммуногистохимической локализации с использованием специфических антител к гормонам растений, чтобы изучить изменения в распределении ЦК в инфицированных тканях пшеницы у двух контрастных по устойчивости сортов. Мы обнаружили, что у устойчивого сорта Баш26 повышенный уровень содержания ЦК отражал их накопление в клетках самого растения, а у восприимчивого сорта Жница – накопление ЦК в тканях патогенного гриба. Полученные нами данные указывают на то, что устойчивость сорта зависела не только от динамики и степени накопления ЦК, но и от того как гормоны распределялись в тканях растения. Если они при общем высоком уровне содержания локализовались в клетках растения и могли участвовать в индукции защитных реакций, то обеспечивали устойчивость данного сорта. Если же ЦК накапливались в тканях патогена, а в клетках растения их было мало, то они не могли обеспечить устойчивость сорта, что приводило к благоприятным условиям для роста и развития патогена, несмотря на общий высокий уровень содержания гормонов. Таким образом, наши результаты дают основание предполагать, что накопление ЦК в клетках растения играло важную роль в реализации механизмов, обеспечивающих их защиту от инфекции.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 14-04-97079-р_поволжье_а.

ДИНАМИКА ЖИРНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА ОТДЕЛЬНЫХ ФРАКЦИЙ ЛИПИДОВ В ПОЧКАХ БЕРЕЗЫ ПОВИСЛОЙ В УСЛОВИЯХ ЯКУТИИ

Dynamics of the fatty acid content of individual lipid fractions from birch buds in Yakutia

Ветчинникова Л.В.[1], Бубякина В.В.[2], Пономарев А.Г.[2], Татаринова Т.Д.[2], Перк А.А.[2], Морозова И.В.[1], Ильинова М.К.[1], Васильева И.В.[2]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт леса Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Республика Карелия; vetchin@krc.karelia.ru*

[2] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологических проблем криолитозоны Сибирского отделения Российской академии наук, Якутск, Республика Саха (Якутия), Россия; anaponomarev@yandex.ru*

В связи с наблюдаемыми климатическими изменениями последних десятилетий, а также возросшим антропогенным прессом на природные объекты, особое значение приобретает изучение бореальных экосистем, сформировавшихся в экстремальных условиях Севера. Важными составными элементами данных лесных формаций являются белые березы (*Betula* L., секция *Albae*). Они входят в состав смешанных лесов или образуют чистые насаждения, участвуют в формировании древесной растительности на ее северной и южной границах распространения, поднимаются высоко в горы.

Целью нашей работы явилось изучение динамики жирнокислотного состава отдельных фракций липидов в почках березы в период их зимне-весеннего развития в условиях криолитозоны. Объектом исследования была восточноазиатская географическая раса березы повислой (*B. pendula* Roth), которая рядом авторов рассматривается в качестве самостоятельного вида – березы плосколистной (*B. platyphylla* Sukacz.). Сбор почек проводили с января по май 2013 г. на территории Республики Саха (Якутия) (окрестности г. Якутска, 62°15 с.ш., 129°37 в.д.). Экстракцию липидов осуществляли смесью хлороформа и метанола в соотношении 2:1 и разделяли методом колоночной хроматографии. Фракции липидов элюировали раздельно: нейтральные липиды – хлороформом, гликолипиды – ацетоном, фосфолипиды – метанолом. Жирные кислоты получали переэтерификацией липидов метанолом в присутствии ацетилхлорида и разделяли на газо-жидкостном хроматографе «Хроматэк – Кристалл-5000» (Йошкар-Ола, Россия).

Согласно полученным данным, в почках березы повислой, произрастающей в условиях криолитозоны, доля ненасыщенных жирных кислот (до 90% от суммы жирных кислот) преобладала над насыщенными. При этом олеиновая кислота определяла основной уровень моноеновых жирных кислот, линолевая – диеновых, а линоленовая – триеновых, хотя их соотношение изменялось в зависимости от фракции липидов. В частности, в фосфолипидах зафиксировано максимальное содержание диеновых жирных кислот (более 70% от суммы жирных кислот), а в нейтральных липидах – моноеновых (40% от суммы жирных кислот).

Результаты исследований показали, что значительные изменения в соотношении моно-, ди- и триеновых жирных кислот в почках березы повислой, произрастающей в условиях Центральной Якутии, происходили в зависимости от фазы развития растений. Наибольшие различия выявлены в весенний период. К примеру, в период распускания почек во фракции фосфолипидов содержание диеновых жирных кислот уменьшилось (в 2 раза) на фоне увеличения триеновых (в 2.1 раза). Еще более заметные изменения произошли во фракции гликолипидов, в которой в период низких отрицательных температур в январе (фаза вынужденного покоя) отмечено накопление диеновых жирных кислот (45–55% от суммы жирных кислот), а в фазу распускания почек – триеновых (80% от суммы жирных кислот), что свидетельствует об усилении активности ω3-десатуразы. Десатурация линолевой кислоты в линоленовую, по всей вероятности, обусловлена мембранными механизмами, обеспечивающими повышение устойчивости меристематических тканей к весенним заморозкам в условиях криолитозоны.

Таким образом, изучение динамики жирнокислотного состава отдельных фракций липидов в почках березы повислой, произрастающей в суровых условиях Центральной Якутии, показало, что общая доля ненасыщенных компонентов липидов превалировала над насыщенными во все изученные фазы развития растений, что обеспечивало устойчивое фазовое состояние липидов в зимне-весенний период в условиях криолитозоны. Наряду с этим, во фракции нейтральных (запасных) липидов среди ненасыщенных жирных кислот доминировали моно- и диеновые группы. В полярных липидах, являющихся структурной основой мембран, наблюдалась другая картина: в гликолипидах преобладали диеновые и триеновые, а в фосфолипидах – диеновые жирные кислоты.

ИЗУЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ГОМОЛОГОВ AA1 ЛЮПИНА ЖЕЛТОГО У *ARABIDOPSIS THALIANA*

Studying gene expression of *Lupinus luteus* AA1 homologs in *Arabidopsis thaliana*

Виноградов Н.С.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; act_of_eureka@mail.ru

Поиск и обнаружение новых компонентов системы передачи гормональных сигналов в клетке является важной задачей физиологии растений. Ранее в Лаборатории экспрессии генома растений был обнаружен и охарактеризован потенциальный участник передачи сигнала абсцизовой кислоты в растениях люпина желтого. Ему было присвоено имя *AA1* (*ABA activated 1*). Экспрессия *AA1* положительно регулируется в ответ на АБК, а продукт этого гена способен ее связывать. В геноме *A. thaliana* выявлены 3 гомолога *AA1*, гены: *At1g21670, At1g21680* и *At4g01870.* Также был охарактеризован продукт гена *At4g01870* и для него показано аналогичное AA1 свойство связывать АБК, а также способность связывать РНК. Не смотря на большие успехи в изучении природы этих генов, функция как *AA1*, так и его гомологов остается неясной.

Для изучения регуляторных особенностей гомологов *AA1* был проведен биоинформатический анализ последовательностей их промоторов. С помощью онлайн-сервиса Athena были определены и проанализированы промоторные области изучаемых генов. В рамках этих областей найдены регуляторные мотивы. Среди них присутствуют регуляторные последовательности ABRE, для которых ранее была показана АБК-зависимость, а также зоны, связывающие транскрипционные факторы семейств MYB, MYC и WRKY, которые вовлечены в ответы на АБК и стрессы. Изучение экспрессии гена *At4g01870* методом realtime-PCR подтвердило положительную регуляцию в ответ на обработку АБК и показало отрицательную регуляцию в ответ на транс-зеатин.

Для изучения регуляции гена *At4g01870* используется метод промоторного анализа. По данным Athena составлена карта расположения потенциальных регуляторных мотивов на промоторе. Были амплифицированы полноразмерный промотор, а также, с учетом расположения цис-элементов, получены 5`-делеционные фрагменты промотора. На основе амплифицированных участков созданы векторные конструкции для агробактериальной трансформации растений. Конструкции несут репортерный ген *GUS,* находящийся под контролем промотора *At4g01870* и его фрагментов. Получены стабильные трансформанты растений *A. thaliana.* На предмет ткане-специфичности были проанализированы растения, несущие *GUS* под контролем полноразмерного промотора *At4g01870.* Гистохимическое окрашивание целых растений и их частей с использованием реактива X-gluc выявило специфику работы изучаемого промотора. Реакция β-глюкуронидазы с субстратом была наиболее ярко выражена в проводящих тканях корня, листьев и чашелистиков. Это позволяет нам предположить, что экспрессия гена *At4g01870* также происходит именно в этих тканях. Это предположение подтверждается биоинформатическими данными с ресурса eFP Browser. Для дальнейшего выяснения специфики работы промотора гена *At4g01870* планируется подвергнуть растения воздействию абиотических стрессов. Для этого будут использованы как растения, несущие полноразмерный промотор, так и его фрагменты.

РЕГУЛЯЦИЯ ОБРАЗОВАНИЯ СЕЛЕН-ЛИПИДНОГО КОМПЛЕКСА У *CHLORELLA VULGARIS* Beij. *(CHLOROPHYTA)* В КУЛЬТУРЕ

Regulation of formation of selenium-lipid complex in *Chlorella vulgaris* Beij. *(Chlorophyta)* in culture

Винярская Г.Б., Боднар О.И., Станиславчук А.В., Грубинко В.В.

Тернопольский национальный педагогический университет имени Владимира Гнатюка, Тернополь, Украина
viniarska19@gmail.com

Селен является физиологически важным микроэлементом, который непосредственно принимает участие в метаболических, биофизических и энергетических процессах, обеспечивающих жизнеспособность клеток. Поглощение селена одноклеточными водорослями и его биологический эффект существенно изменяются в зависимости от морфо-функциональных особенностей представителей видов водорослей, концентрации и степени окисления селена в соединениях, физико-химических факторов водной среды. Кроме того, доступность соединений селена для микроводорослей определяются другими сопутствующими факторами, среди которых значимыми является присутствие ионов биогенных и небиогенных металлов. Известно, что степень ингибирования роста и развития водорослей выше при действии высоких концентраций селенатов, чем селенитов, поэтому водоросли для обеспечения своей жизнедеятельности предпочитают поглощать из среды обитания соединения Se (IV) по сравнению с Se (VI). Микроводоросли включают элемент в клетках в состав свободных аминокислот, белков, ферментов, полисахаридов, каротиноидов и липидов, при этом накопление существенно преобладает над его экскрецией (Боднар О.И. и др., 2014).

Липиды у водорослей играют важную роль в процессах роста, размножения и фотосинтетической деятельности и также выполняют энергетическую функцию. В частности, у гидрофитов значительное использование липидов наблюдается при действии экстремальных факторов окружающей среды. Их количество и качественный состав в клетках, прежде всего в мембранах, отражает состояние синтеза и деградации липидов, а также особенности обмена со средой обитания. Целью работы было исследование особенностей регуляции образования селен-липидного комплекса у *Chlorella vulgaris* (накопления селена липидами разных классов в клетках *Chlorella vulgaris*) ионами металлов – Zn^{2+}, Mn^{2+}, Cu^{2+}, Fe^{3+}, Co^{2+}.

Исследования проводились на микропопуляциях культуры зеленой пресноводной водоросли *Chlorella vulgaris* Beij., которую выращивали в соответствующих условиях согласно рекомендованных методик, в норме и при действии ионов Se^{4+} в концентрации 10,0 мг/дм^3, с добавлением водных растворов солей металлов в расчете на количество ионов: Zn^{2+} – 5 м/дм^3, Mn^{2+} – 0,25 мг/дм^3, Cu^{2+} – 0,002 мг/дм^3, Fe^{3+} – 0,008 мг/дм3, Co^{2+} – 0,05 мг/дм^3. Отбор образцов биомассы водорослей для определения накопления селена осуществляли на 7-е сутки экспозиции. Содержание селена в липидах после хроматографии последних на пластинках Silufol UV-254 и озоления в азотной кислоте при 120ºС в течение 2 ч определяли спектрофотометрически с о'-фенилендиамином (Дедков Ю.М., 2002).

На протяжении всего периода инкубации водорослей с селенитом и ионами металлов (7 сут) наблюдали значительное накопление селена в липидах различных классов. Так, при внесении селенита содержание селена в фосфолипидах увеличилось в 1,4 раза, а в комплексе с металлами – Co^{2+}, Mn^{2+}, Cu^{2+}, Zn^{2+} и Fe^{3+}, увеличилось относительно контроля в 3; 2,6; 4; 3 и 1,5 раза соответственно. Диацилглицеролы по сравнению с фосфолипидами накапливали незначительное количество селена при действии селенита (его содержание увеличилось только на 12%) и селенита с Zn^{2+} (на 85%), тогда как при совместном воздействии селенита с Co^{2+}, Mn^{2+}, Cu^{2+} и Fe^{3+} наблюдали значительное увеличение содержания селена соответственно в 3; 3,6; 3,3 и 1,4 раза относительно контроля. Содержание микроэлемента в неэтерифицированных жирных кислотах значительно увеличилось при действии селенита со всеми исследуемыми металлами: при действии селенита увеличился в 1,7 раза; Co^{2+} – в 9,3 раза; Mn^{2+} – в 13 раза; Cu^{2+} – в 19,6 раза; Zn^{2+} – в 22,3 раза и Fe^{3+} – в 11,8 раза. В лизофосфолипидах при действии селенита содержание селена увеличилось на 72%, а при действии селенита с металлами – Co^{2+}, Mn^{2+}, Cu^{2+}, Zn^{2+} и Fe^{3+} – увеличилось соответственно на 10,5%, 157,3%, 85,5% 150,8% и 258,6% относительно контроля. Незначительное количество селена аккумулировали триацилглицеролы. Так, при действии селенита отдельно и совместно с Co^{2+} содержание селена увеличилось на 41,6%, тогда как при действии селенита с Mn^{2+} – на 169%, селенита с Cu^{2+} – на 118%, селенита с Zn^{2+} – на 97,4% и селенита с Fe^{3+} – на 224,2% относительно контроля.

Таким образом, результаты исследований показали, что содержание селена в в липидах различных классов значительно увеличивается при совместном воздействии селенита и ионов металлов, чем при воздействии селенита отдельно. Однако, наилучшие результаты относительно накопления селена были получены в случае накопления неэтерифицированными жирными кислотами, фосфолипидами и диацилглицеролами при воздействии селенита со всеми исследованными микроэлементами. Это может быть связано с биологической ролью исследуемых металлов, а также свойствами липидов. Регулирование образование селен-липидного комплекса селенитом натрия при совместном воздействии с Zn^{2+}, Mn^{2+}, Cu^{2+}, Fe^{3+} и Co^{2+} может быть использовано для разработки технологий получения селен-металл-липидных биологически активных препаратов.

РОЛЬ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА В РАСПРОСТРАНЕНИИ ВАРИАБЕЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА У ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

The role of hydrogen peroxide in propagation of variation potential in higher plants

Воденеев В.А., Семина М.М., Бушуева А.В., Мысягин С.А., Катичева Л.А.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород, Россия
v.vodeneev@mail.ru

Существуя в изменяющихся условиях окружающей среды растения, в связи с неподвижным образом жизни, не имеют возможности избежать действия неблагоприятных факторов. В связи с этим имеет особое значение развитие адаптивного ответа на действие стрессора. Координация активности многоклеточных сложноорганизованных организмов, в том числе и высших растений, требует наряду с внутриклеточной также межклеточной дистанционной передачи сигналов. При локальном раздражении адекватный ответ на внешние воздействия включает изменения в органах и тканях, которые непосредственно не подвергались влиянию неблагоприятного фактора. В качестве кандидатов на осуществление связи между зоной локального раздражения и зоной, в которой происходит эффекторный ответ, у растений рассматривают сигналы химической природы, гидравлический сигнал, комбинацию гидравлического и химического сигналов (гидравлическая дисперсия) и электрические сигналы. Потенциал действия (ПД) и вариабельный потенциал (ВП) традиционно относят к электрическим сигналам растений, возникающим, соответственно, при действии неповреждающих и повреждающих раздражителей. Однако, ВП нельзя рассматривать как самораспространяющийся электрический сигнал, поскольку ВП представляет локальный электрический ответ, возникающий при распространении гидравлического или химического сигнала. Одним из наиболее дискуссионных аспектов химической гипотезы распространения ВП является отсутствие сведений о природе вещества, индуцирующего развитие ВП. Соединение, которое вызывает генерацию ВП, должно обладать способностью к индукции электрического ответа и высокой способностью к распространению. В работе проведен анализ возможной роли пероксида водорода, в качестве соединения, индуцирующего ВП.

Эксперименты проводились на двухнедельных проростках гороха (*Pisum sativum* L.). ВП индуцировали ожогом кончика листа. Электрическую активность на различном расстоянии от зоны раздражения регистрировали внеклеточно с помощью Ag/AgCl макроэлектродов. Внутриклеточную регистрацию осуществляли с использованием системы SliseScope. Содержание H_2O_2 регистрировали с помощью флуоресцентного зонда Oxi-Red. Растение фиксировали жидким азотом через 50 или 150 секунд после нанесения раздражения. В жидком азоте выделяли три фрагмента стебля 1-4, 4-7 и 7-10 см от зоны раздражения. Фрагменты гомогенизировали в ТХУ, с последующим определением H_2O_2 в гомогенате.

Нанесение раздражения вызывает распространение ВП в стебле проростка гороха. Определение содержания пероксида водорода в фрагментах стебля показало, что спустя 50 секунд после раздражения происходит увеличение концентрации H_2O_2 в первом фрагменте (1-4 см от зоны раздражения). На расстоянии 4-10 см от зоны раздражения не происходит увеличения содержания H_2O_2. Через 150 секунд после раздражения имеет место увеличение содержания H_2O_2 во втором фрагменте (4-7 см от зоны раздражения). При этом содержание пероксида водорода в первом фрагменте не отличалось от контрольных растений. Полученные результаты указывают, что спустя короткое время после раздражения происходит увеличение содержания пероксида водорода на значительном расстоянии от зоны раздражения.

В отдельной серии экспериментов с регистрацией изменений мембранного потенциала клеток проростка было показано, что искусственное увеличение содержания пероксида в омывающем растворе вызывает развитие деполяризации. Параметры электрической реакции, индуцированной H_2O_2 сопоставимы с параметрами ВП.

В целом, полученные результаты указывают на то, что пероксид водорода можно обосновано рассматривать в качестве агента, индуцирующего развитие ВП.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России (проект №6.2050.2014/К).

НОВЫЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ ХЛОРОФИЛЛА *b* У ЦВЕТКОВЫХ РАСТЕНИЙ: ФОТОСИНТЕЗ, СИГНАЛИНГ И РЕГУЛЯЦИЯ ОНТОГЕНЕЗА

New functions of chlorophyll *b* in angiosperms: photosynthesis, signaling and ontogenetic regulation

Войцеховская О.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия; ovoitse@binran.ru

Доклад суммирует современные представления о функциях хлорофилла *b* (Хл *b*) у цветковых растений. Будучи специфическим хлорофиллом антенных комплексов, Хл *b* на низком свету участвует в увеличении светосбора, а на высоком свету - в диссипации избытка поглощенной световой энергии, участвуя в формировании «тропинок» для миграции световой энергии в пределах антенны и от антенны к фотосистемам, а также непосредственно в составе центров тепловой диссипации (например, в антенном белке Lhcb4). Связывание Хл *b* белками фотосинтетического аппарата важно не только для правильной сборки антенных комплексов фотосинтетических мембран и поддержания стэкинга гранальных тилакоидов, но и для оптимальной супрамолекулярной организации фотосинтетических мембран. Упорядоченная организация пигмент-белковых комплексов в мембране гранальных тилакоидов оказывает влияние на процессы латеральной диффузии как самих комплексов, так и молекул с низкой молекулярной массой, таких, как пластоцианин, пластохинон и ксантофиллы. Недостаток Хл *b* вызывает изменения размера и состава фотосинтетических комплексов гранальных тилакоидов, что приводит к изменению характера их упаковки в мембране. Вызванное этим ограничение латеральной диффузии макромолекулярных пигмент-белковых комплексов затрудняет процессы их репарации, а лимитирование диффузии пластоцианина и пластохинона может серьезно лимитировать линейный электронный транспорт.

Оказалось, что содержание Хл *b* оказывает влияние на гормональный и онтогенетический сигналинг на уровне целого растения, то есть за пределами хлоропластов и фотосинтезирующих клеток листа. Изменения в содержании белков малой антенны в связи с измененным уровнем биосинтеза Хл *b* вызывают изменение уровня АБК в листьях растений. Анализ данных по содержанию Хл *b*, составу антенных белков и регуляции биосинтеза ксантофиллов (в т.ч. предшественника биосинтеза АБК- неоксантина) у гомо- и пойкилогидрических представителей водорослей и растений позволяет предполагать наличие эволюционной взаимосвязи между функциями малой антенны и биосинтезом АБК как «гормона засухи». Также, недавние работы выявили, что стабильность антенного комплекса фотосинтетического аппарата, которая напрямую зависит от содержания Хл *b*, является важным источником сигналов, несущих информацию об условиях внешней среды и о возрасте клетки. Трансгенные растения с повышением содержания Хл *b* вследствие суперэкспрессии гена, кодирующего фермент биосинтеза Хл *b* хлорофилид-а-оксигеназу, отличаются замедленным переходом к старению, а мутанты, лишенные Хл *b*, испытывают затруднения в переходе к цветению и нарушения прохождения онтогенетических фаз. Анализ собственных и литературных данных позволяет сделать вывод о важной роли Хл *b* в онтогенетической регуляции растений. В заключение в докладе обсуждается иерархия плейотропных эффектов, которые неспособность к синтезу Хл *b* у мутантов оказывает на уровень фотозащиты, фотосинтез, рост и развитие растений, и дается новая интерпретация наблюдаемого у таких растений снижения продуктивности.

Исследования поддержаны РНФ (№14-16-00120).

ПОСЛЕДНИЕ ДОСТИЖЕНИЯ В ОБЛАСТИ ИСКУСТВЕННОГО ФОТОСИНТЕЗА

Recent advances in the field of artificial photosynthesis

Волошин В.Д., Креславский В.Д., Жармухамедов С.И., Бедбенов В.С., Аллахвердиев С.И.

Федеральное государственное бюджетное учреждение наукиИнститут физиологии растений им. К.А. ТимирязеваРоссийской академии наук, Москва, Россия; voloshinra@gmail.com

Энергетический кризис и экологические проблемы одни из самых важных вопросов, которые встают перед человечеством в XXI веке. Многие из текущих исследований фокусируются на разработке возобновляемых, устойчивых и безвредных для окружающей среды, источников энергии.

Традиционные фотоэлементы на основе полупроводниковых материалов предполагают довольно дорогие методики производства. Даже современные ячейки на поликристаллическом кремнии все равно еще слишком дороги, чтобы конкурировать с ископаемым топливом.

Фотоэлементы, в которых фотоактивным элементом выступает органический материал, имеют некоторые преимущества над традиционными кремниевыми солнечными батареями. Стоимость производства таких ячеек меньше за счет большей гибкости, область применения их больше. Главный недостаток в том, что они не достигают эффективности неорганических фотоэлементов.

Фотосинтез – процесс естественного преобразования энергии света в энергию химических связей с последующим синтезом органических соединений. Он происходит в фототрофных организмах, к которым относятся высшие растения и многие типы фотосинтезирующих бактерий, включая цианобактерии. КПД преобразования энергии в первичных процессах фотосинтеза близок к 100%. Для оксигенного фотосинтеза в качестве донора электронов и протонов используется вода, и неиссякаемый источник энергии – солнечное излучение. Поэтому фотосинтез как эффективный и экологический способ преобразования энергии уже многие годы привлекает исследователей и конструкторов альтернативных энергетических установок.

Сравнивать эффективности преобразования нынешних фотогальванических ячеек с фотосинтезирующими живыми клетками сложно, потому что это совершенно разные системы. Эффективность фотогальванических ячеек может быть измерена на основе выходной мощности отнесенной к излучению всего солнечного спектра. Однако такой способ не учитывает запасание и транспортировку энергии. Фотогальваническая энергия обычно запасается в батареях, что увеличивает их стоимость и повышает издержки содержания таких систем. Напротив, фотосинтез приводит к запасанию энергии в виде энергии химических связей, которую в дальнейшем можно преобразовать в электрическую энергию.

К последним достижениям по конструированию оптимальных солнечных ячеек относится создание преобразователей на основе препаратов тилакоидных мембран, фотосистем, целых клеток цианобактерий осажденных на наноструктурированном электроде (золотые наночастицы, углеродные нанотрубки, наночастицыZnO и TiO_2). Конструируются солнечные ячейки на основе мультислойной структуры из комплексов фотосистемы 1, топливные микробные ячейки, производящие молекулярный водород, топливные ячейки на основе комплексов фотосистема1/гидрогеназа, фотоэлементы на основе комплексов эозин-арабиноза.

Использование форм хлорофилла *f* и *d*, поглощающих в дальней красной и ближней инфракрасной области спектра (700-750 нм), в отличие от более распространенных форм, таких как Chl*a* и Chl*b*, также позволит увеличить эффективность таких систем.

На сегодняшний деньс использованием фотосистемы 1 достигнута самая высокая плотность тока 362 мкА/см^2 и плотностью потока энергии 81 мкВт/см^2. Стабильностьтаких изолированных комплексов фотосистемы 1 увеличивалась благодаря их обработке поверхностно активными пептидами. В качестве поверхностно-активного пептида использовался Ac-AAAAAAK-NH_2 – последовательность из шести аланинов и одного лизина. В этой искусственной системе роль пластоцианина выполнял кобальтовый электролит, а ферредоксин заменялся нанокристаллическим TiO_2

Исследования в области искусственного фотосинтеза направлены на развитие систем, которые эффективно производят устойчивую экологически чистую энергию за счет солнечного света, не требуя внешнего топлива. Эти системы должны обладать высоким квантовым выходом и генерировать потоки энергии большой плотности для того, чтобы удовлетворить энергетическим запросам. Использование систем, имитирующих работу фотосинтетического аппарата и элементов фотосинтезирующих систем в генераторах тока и топливных элементах довольно перспективное направление. Но еще многое предстоит изменить и совершенствовать, прежде чем такие фотопреобразователи станут повсеместно используемыми.

Работа выполнена при поддержке РНФ (грант 14-14-00039).

АДАПТИВНОСТЬ И ПРОДУКТИВНОСТЬ ПОЛЫНИ ЭСТРАГОННОЙ ПРИ ПРОИЗРАСТАНИИ В АРИДНЫХ УСЛОВИЯХ КАЛМЫКИИ

The adaptivity and productivity of *Artemisia dracunculus* L. under arid condition of Kalmykia

Волошина Т.В.

Калмыцкий государственный университет, Элиста, Россия; tat-vol.94@mail.ru

Республика Калмыкия, расположенная на стыке степной и пустынных зон, относится к наиболее засушливому региону на юге-востоке европейской части России. Поэтому ее растительность определяется представителями, способными произрастать в условиях действия таких наиболее часто встречающихся стресс-факторов, как засуха, высокая температура, засоление в силу выработки адаптационных механизмов к их воздействию. К таким представителям относятся различные виды рода *Artemisia* L. Сообщества с участием полыней разных видов или их доминированием, являются господствующими в природных ландшафтах и служат источниками получения кормов для животноводства. В связи с этим, большой интерес представляет полынь эстрагонная сорта «Нарн», выведенная учеными КНИИМСа и КГУ и отличающая засухоустойчивостью и зимостойкостью. Для обоснования эффективности выращивания полыни эстрагонной, понимания механизмов адаптации этой культуры к неблагоприятным факторам, крайне важным является изучение физиологического состояния данного сорта при ее произрастании в аридных условиях Калмыкии.

Впервые проведенный анализ пигментного фонда, некоторых показателей водного режима, роста и продуктивности полыни эстрагонной выявил отличия по сравнению с такими распространенными видами полыней как полынь белая, полынь австрийская и полынь сантонинная. Изучение содержания пигментов полыни эстрагонной показало, что хлорофилла *a* содержится 1,61 мг, хлорофилла *b* 1,33 мг/г сырого веса. У данного сорта установлен довольно высокий уровень каротиноидов (0,49 мг), что значительно выше, чем у других изученных видов полыней и может представлять интерес в качестве системы антиоксидантной защиты. Этот сорт полыни отличался высокой интенсивностью транспирации и оводненностью листьев, превышающей данные показатели у указанных видов. Установлено, что растение полыни эстрагонной характеризуются более активными ростовыми процессами. Они были высокорослыми, достигая среднем высоты 93,5 см, высокопродуктивными, накапливая 37,56 г сырой биомассы и 12,57 г абсолютного сухого веса стебля растения. Интенсивные ростовые процессы, фотосинтетическая деятельность, обеспечиваемая пигментным аппаратом, позволили данной культуре создавать довольно высокую урожайность (38 ц/га).

Впервые проведенное изучение физиологического состояния полыни эстрагонной, включающее анализ пигментного фонда, водного режима и ростовых процессов, расширяет представление о биологических особенностях созданного сорта и способствует расшифровке механизма адаптации этой культуры к аридным условиям произрастания.

НОВАЯ ФУНКЦИЯ ЭНДОГЕННЫХ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

A new function of endogenous phenolic compounds

Волынец А.П.

Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь;
patphysio@mail.ru

Биологическая активность эндогенных фенольных известна давно. Долгое время считалось, что фенольные соединения являются природными ингибиторами роста. Однако трудно было согласиться с тем, что столь разнообразные по структуре соединения обладают одинаковой активностью. На большом экспериментальном материале с использованием многих фенольных соединений в разной концентрации нами было показано, что они являются регуляторами роста особого типа, активность которых определяется общей структурой вещества, количеством и расположением оксигрупп в молекуле. Росторегулирующая активность фенольных соединений возрастает в направлении флавоны изофлавоны флавонолы оксибензойные кислоты оксикоричные кислоты оксикумарины. Если флавоны в эндогенной концентрации являются слабыми ингибиторами, то оксикумарины – выраженными регуляторами роста. Ростовая активность фенольных соединений каждой группы в свою очередь определяется особенностями боковых заместителей в кольце. п-Оксифенолы обычно ингибируют рост, о-диоксифенолы – стимулируют, а метоксифенолы занимают промежуточное положение.

В начале 1970-х годов было установлено, что фенольные соединения способны активировать или ингибировать оксидазу ИУК в опытах *in vitro*. Но этому факту не придали особого значения, и роль фенольных соединений в системе эндогенных регуляторов оставалась нераскрытой. Эти данные побудили нас провести комплекс специальных исследований для выяснения характера действия фенольных соединений на активность ферментов ауксинового обмена в условиях *in vitro* и *in vivo*. Оказалось, что все фенольные соединения регулировали образование и распад ИУК, т.е. выступали в роли эффекторов ауксина. Если п-соединения ингибировали образование и ускоряли распад ауксина, то о-диоксисоединения оказывали противоположное влияние, т.е. являлись синергистами ауксинового обмена. Очень важно, что природные смеси фенольных соединений в опытах *in vivo* всегда подавляли распад гормона, тем самым активируя ростовые процессы. Теперь стал понятен смысл присутствия разнообразных по структуре фенольных соединений во всех растущих органах и тканях. Для роста недостаточно только наличия ауксина, его ферментов и фенольных соединений. Важно, чтобы в растущих органах всегда присутствовали противоположные по знаку действия эффекторы. Они могут быть одной группы фенольных соединений (п-кумаровая и кофейная кислоты) или разных групп (п-оксибензойная кислота и кверцетин и т.д.).

Окончательным доказательством существования фенольной регуляции роста растяжением стали опыты по направленному изменению тех процессов, в которых ауксин является ведущим регулятором роста. К ним можно отнести рост растяжением колеоптилей злаков, удлинение пыльцевых трубок, корне- и плодообразование. Совместное воздействие ауксина и о-диоксифенольных соединений на эти процессы позволило не только полностью сохранить стимулирующее влияние гормона, но и получить аддитивный или сверхаддитивный эффект. С прекращением роста исчезает ауксин, одновременно выводятся с ростового процесса и активные фенольные соединения, пополняя фонд запасных (гликозиды и эфиры) и полимерных (лигнин) фенольных соединений, т.е. фенольные эффекторы ауксина необходимы для роста на всех этапах онтогенеза.

Таким образом, распространение, состав, структура и динамика фенольных эффекторов ауксина в растущих тканях не случайны, они теснейшим образом связаны с ростом клеток растяжением. Эти данные показывают, что ауксины и фенольные соединения выступают в росте единым комплексом как при стимуляции, так и при ингибировании ростовых процессов. Это открытие имеет важное значение для понимания эндогенной регуляции роста, свидетельствуя, что взаимообусловленное ускорение или замедление ростовых процессов, – основное свойство эндогенных регуляторов роста. Поиски способов повышения эффективности роста с помощью фенольных эффекторов ауксина – также актуальная практическая задача.

УСТОЙЧИВОСТЬ ЛЕСНЫХ ФИТОЦЕНОЗОВ К ИЗМЕНЕНИЮ КЛИМАТА

Sustainability of forest ecosystems to climate change

Воронин П.Ю.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; pavel@ippras.ru

Обсуждаются критерии оценки устойчивости лесных фитоценозов к изменению климата в рамках модели углеродного и водного циклов на стадии фотосинтетического CO_2/H_2O газообмена листа, изотопной дискриминации ^{13}C и ^{15}N в ходе окислительной конверсии древесины и многолетнего сезоного баланса CO_2 в атомосфере на уровне кронового пространства древостоя.

МЕЛАТОНИН СНИЖАЕТ НЕГАТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ ИЗБЫТОЧНЫХ ИОНОВ МЕДИ НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ CO_2-ГАЗООБМЕН ЛИСТЬЕВ РАПСА

Melatonin decreases the negative effect of excessive copper ions on the photosynthetic CO_2 gas exchange of canola leaves

Воронин П.Ю., Холодова В.П., Рахманкулова З.Ф., Васильев С.В., Кузнецов Вл.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; pavel@ippras.ru

Мелатонин (Мел) (N-acetyl-5-metoxytryptamine) - хорошо известный регулятор циркадного цикла животных организмов, присутствует в органах ряда растений в высоких концентрациях. Физико-химическая структура Мел и основных продуктов его метаболизма свидетельствует о его способности функционировать в качестве скэвенджера АФК и эффективного антиоксиданта.

Изучали влияние мелатонина на растения рапса *Brassica napus* L. с. Вестар, подвергнутые воздействию ионов меди в высокой концентрации. Растения, выращенные под люминесцентными лампами при плотности потоков квантов ФАР 100 мкмоль/(с $м^2$), 14 ч фотопериоде и температуре 21/19°С (день/ночь), на питательной среде Хогланда-Снайдера в течение 6 недель, переносили на среду с $CuSO_4$ (100 мкМ), или с Мел (10 мкМ), или $CuSO_4$ 100 мкМ и Мел 10 мкМ, контроль - питательная среда без добавок. Содержание Cu в листьях определяли с помощью атомно-адсорбционного спектрофотометра ААС-400 (ЛАБИСТ, Россия). CO_2/H_2O газообмен листа измеряли с помощью одноканального ИК-газоанализатора (LI-820, «LiCor», США), увлажнителя (LI-610, «LiCor», США) и психрометра («Vaisala», Финляндия) в открытой схеме. Определение максимального квантового выхода флуоресценции ФС II осуществляли на адаптированном к темноте фрагменте листа, нефотохимическое тушение флуоресценции (NPQ) и интенсивность эффективного квантового выхода флуоресценции ФСII ($Ф_{ФСII}$) оценивали при освещении действующим светом с помощью PAM флуориметра (PAM 101, «Walz», Германия) в соответствии с фирменными рекомендациями. Содержание малонового диальдегида (МДА), продукта перекисного окисления липидов, определяли по реакции с тиобарбитуровой кислотой. Показано, что 10-дневное воздействие 100 мкМ CuSO4 вызывало существенное снижение ростовых параметров, интенсивности максимального (F_v/F_m) на 15% и в 1,5-2 раза эффективного ($Ф_{ФСII}$) квантового выхода флуоресценции ФСII и усиление нефотохимического тушения флуоресценции (NPQ) в 3 раза. Наблюдалось сильное снижение (более чем в 4 раза) интенсивности видимого фотосинтеза. При этом интенсивность транспирации (Е) и содержание в воды в листьях растений достоверно не изменялись. Воздействие 10 мкМ Мел при росте на стандартной среде, в отсутствии избытка меди, не вызывало у растений рапса достоверных изменений исследованных показателей. При совместном внесении 100 мкМ $CuSO_4$ и 10 мкМ Мел на 27% увеличивалась биомасса растений и несколько возрастало содержание меди в листьях рапса, но не изменялись фотосинтетические характеристики (F_v/F_m, NPQ, $Ф_{ФСII}$), Е и содержание воды. Однако добавление Мел в 2 раза снижало негативное действие $CuSO_4$ на фотосинтетический CO_2-газообмен листьев рапса. Усиление видимого фотосинтеза в присутствии Мел, вероятно, было одной из основных причин увеличения ростовых параметров растений рапса.

Медь, являющаяся одним из главных участников редокс-системы растения, при ее избыточных концентрациях в тканях инициирует активацию образования АФК. При действии 100 мкМ CuSO4 наблюдалось более чем в 2-х кратное увеличение концентрации МДА, что свидетельствовало о высокой степени перекисного окисления липидов в листьях рапса. Воздействие Мел приводило к снижению МДА на 20%. Это позволило сделать вывод, что защитное действие мелатонина на фотосинтетический CO_2-газообмен и аккумуляцию биомассы частично опосредовано его антиоксидантными свойствами. Другой возможной причиной повышения фотосинтетического CO_2-газообмена растений рапса при внесении Мел могло быть его хелатирующее действие по отношению к избытку меди.

НЕКЛЕТОЧНОАВТОНОМНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ В АПИКАЛЬНЫХ МЕРИСТЕМАХ ПОБЕГА ЭВОЛЮЦИОННО ДРЕВНИХ ТАКСОНОВ РАСТЕНИЙ

Воронина Е.А.[1,2], Евкайкина А.И.[1], Добрякова К.С.[1], Романова М.А.[2], Тютерева Е.В.[1], Войцеховская О.В.[1]

[1] *Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург, Россия*
[2] *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*

У многоклеточных организмов для координации процессов роста и развития необходим обмен информацией между клетками. У высших растений для этой цели используются уникальные наноструктуры, соединяющие клетки – плазмодесмы. Перенос по плазмодесмам таких регуляторов развития, как микроРНК и белки-факторы транскрипции, играет ключевую роль в регуляции морфогенеза цветковых растений. Однако, неизвестно, участвует ли этот процесс в морфогенезе эволюционно древних таксонов высших растений.

В этом плане представляет интерес сравнительное исследование представителей ряда таксонов с различной эволюционной историей: голосеменные (*Picea abies*), папоротникообразные (*Ceratopteris richardii*) и плаунообразные (*Huperzia selago*, *Selaginella kraussiana*). В качестве модели данного исследования были выбраны неклеточно-автономные факторы, кодируемые генами *KNOX*, регулирующими функционирование апикальных меристем побега растений. Именно эти гены наиболее хорошо изучены у широкого круга представителей цветковых растений, а также некоторых представителей других таксонов. Поэтому целесообразно их использование для выявления межклеточного переноса белков у представителей ряда таксонов.

Следующие методы могут дать ответ на вопрос, существует ли неклеточно-автономная регуляция морфогенеза в апикальных меристемах белками KNOX у объектов данного исследования: иммуногистохимическое выявление клеток меристемы, где локализуются белки KNOX; выявление клеток, где экспрессируются гены *KNOX*, путем гибридизации РНК *in situ*, а также визуализация плазмодесм между клетками апикальной меристемы. Выявление этих паттернов для апикальных меристем, и сравнение их между собой, позволит дать первую информацию о возможной реализации механизма неклеточноавтономной регуляции у модельных объектов исследования. Важно подчеркнуть, что следить напрямую за перемещением по плазмодесмам GFP-меченых белков у представителей несеменных и хвойных растений не представляется возможным. Для этого потребовалась бы агробактериальная трансформация этих растений соответствующими конструктами, которая в настоящее время не отработана.

В докладе будут представлены результаты отработки вышеперечисленных методик для апикальных меристем побега *Picea abies*, *Ceratopteris richardii*, *Huperzia selago*, *Selaginella kraussiana*.

Исследование поддержано РФФИ (№13-04-02000). Использовалось оборудование ЦКП БИН РАН.

КАЛЛУСОГЕНЕЗ И РЕГЕНЕРАЦИЯ РАСТЕНИЙ В КУЛЬТУРЕ ТКАНЕЙ *IN VITRO* У ПОДСОЛНЕЧНИКА (*HELIANTHUS* L., ASTERACEAE)

Callus formation and plant regeneration in sunflower (*Helianthus* L., Asteraceae) *in vitro* tissue culture

Воронова О.Н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ботанический институт им. В.Л.Комарова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия; o_voronova@binran.ru

По литературным данным известно, что для подсолнечника процесс каллусоброзования в культуре *in vitro* идет довольно успешно, но стабильное получение растений-регенератов из каллусной культуры затруднено. Мы не нашли ни одного протокола, из уже предложенных исследователями, который был бы подтвержден в других работах. Наибольшего успеха в получении регенерантов достигли, используя прямую регенерацию из семян или незрелых зародышей. Но у многолетних видов или межвидовых гибридов бывает очень низкая семенная продуктивность или полная стерильность, кроме того, регенерация путем прямого эмбриоидогенеза не годится для процедуры генетической трансформации. Все вышеизложенное определяет актуальность работ по поиску путей регенерации в культуре тканей *in vitro* у подсолнечника.

В нашем исследовании были задействованы несколько диких видов подсолнечника: *H. annus* (три разных образца), *H. decapetalus*, *H. giganteus*, *H. macrophyllus*, *H. nutalli*, *H. occidentalis* ssp. *occidentalis*, *H. tuberosus* (четыре образца), *H. tuberosus velmoren*, а также культурные формы *H. annus*: сорт Мастер, линия ВИР 114 Б и линия ВИР 114 А pet (с ЦМС). В качестве первичных эксплантов использовались семена (в большей части опытов) или отдельные трубчатые цветки (*H. tuberosus)*. Семена были взяты с растений, которые выращивались на Кубанской опытной станции ВНИИР им. Н.И. Вавилова. Соцветия топинамбура разных стадий цветения были собраны с трех разных образцов, произрастающих в Санкт-Петербурге и Ленинградской области.

В процедуре получения каллуса у подсолнечника сложным оказался этап введения в стерильную культуру *in vitro*, из-за сильного грибного заражения семян. Жесткая стерилизация с замачиванием семени в 96% этаноле на 20мин. и обжигом семян над пламенем спиртовой горелке в течении 10-15 сек., не всегда помогала. В таких случаях, пораженная гифами грибов семенная кожура сразу удалялась, а зародыши или проростки подвергались дополнительной стерилизации в 10% растворе перекиси водорода.

Семена в первой серии опыта высаживали в чашки Петри на фильтровальную бумагу, смоченную дистиллированной водой в стерильных условиях. Через несколько дней семена прорастали. Проростки переносили в чашки Петри на питательную среду МС½ (среда по Мурасиге и Скуга с половинной дозой питательных веществ). Проростки продолжали свой рост на среде с ½ МС, а затем были разрезаны на части и пересажены на три варианта среды МС (в зависимости от добавленных ростовых регуляторов): МС1 – 2 мг/л БАП, 1 мг/л НУК; МС2 – 2 мг/л ТДЗ; МС3 - 0,1 мг/л БАП, 0,1 мг/л НУК, 40 мг/л АС. Чашки культивировались при температуре +22°С, в темноте или на свету. Каллусообразование, в той или иной степени, наблюдалось, вне зависимости от условий освещенности, на всех вариантах среды и из разных частей проростков (из семядолей, кусочков стебля, листа, корней, почки).

Во второй серии опытов в качестве эксплантов использовались отдельные трубчатые цветки из соцветий топинамбура, взятые с трех различных образцов (1, 2, 3). Цветочки стерилизовали в течении 20 мин в 10% растворе перекиси водорода, затем дважды отмывали стерильной дистиллированной водой. Высаживали их на питательную среду МС с различными вариантами добавления регуляторов роста: МС4 – 2 мг/л ТДЗ, 40 мг/л АС; МС5 – 0,5 мг/л НУК, 1 мг/л ТДЗ, 2 мг/л БАП; МС6 – 1 мг/л НУК, 1 мг/л ТДЗ, 4 мг/л БАП; МС7 – 1,5 мг/л НУК, 1 мг/л ТДЗ, 4 мг/л БАП; МС8 – 2 мг/л НУК, 1 мг/л ТДЗ, 4 мг/л БАП. На аналогичные среды был пересажен и каллус полученный в первой части эксперимента (из проростков). Почти во всех вариантах опыта наблюдалось образование нового каллуса, но формирования почек или побегов добиться не удалось.

Удалось ввести в культуру *in vitro* и получить стабильно растущий каллус для *H. annus* (1 образец), *H. giganteus*, *H. occidentalis* ssp. *occidentalis*, *H. tuberosus* (какллус из семян и из цветков), а также культурной формы *H. annus*: сорт Мастер. При следующей пересадке использовались еще 4 варианта среды на которых, по литературным данным, успешно была осуществлена регенерация из каллуса у некоторых видов/сортов/образцов подсолнечника: МС9 – 0,2 мг/л БАП, 0,1 мг/л НУК; МС10 – 0,5 мг/л БАП, 0,1 мг/л НУК; МС11 – 1 мг/л БАП, 0,5 мг/л НУК; МС12 – 1 мг/л БАП, 0,02 мг/л НУК. Чашки культивировались при температуре 25°С, в темноте или на 16 ч фотопериоде.

Получить регенерацию из каллусной культуры удалось для *H. giganteus* на среде МС9, МС10, МС11 при культивировании в темноте. На среде МС9 наблюдалось образование побега с корешком, отдельных почек и отдельных корней, на среде МС10 и МС11 – только появление почек.

БАП-бензиламинопурин, НУК –нафтилуксусная кислота, ТДЗ- тидиазурон, АС – аденин сульфат.

ВЛИЯНИЕ ПОЧВЕННОЙ ЗАСУХИ НА СОПРЯЖЕННОСТЬ ФУНКЦИЙ ПРОДУКЦИОННОГО ПРОЦЕССА РАСТЕНИЙ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ

Effects of soil drought on the functions conjugation of production process in Winter Wheat

Воронцов В.А., Меренюк Л.Ф., Балаур Н.С.

Институт генетики, физиологии и защиты растений АН Республики Молдова, Кишинев, Молдова
vorontsov2000@front.ru

Известно, что почвенная засуха приводит к структурным и функциональным нарушениям в жизнедеятельности растений, к изменениям сопряженности параметров продукционного процесса растений, к снижению их продуктивности. Сила или теснота связи между составляющими продукционного процесса оценивается по величине коэффициента парной корреляции, которая может указывать на направление и степень сопряженности изменчивости изучаемых признаков.

Объектом исследований служили растения озимой пшеницы, сорта Баллада, Бельчанка 7, Дана, Бельцкая 32, выращенные в сосудах Митчерлиха при нормальных условиях влажности почвы на вегетационной площадке Института Генетики, Физиологии и Защиты растений АН РМ. На фазе «колошение – цветение» растения были переведены на два режима увлажнения почвы: 60% (контроль) и 30% (почвенная засуха) от полной влагоемкости. Параметры мезоструктуры, CO_2 – газообмена и энергетики флаговых листьев и колоса растений озимой пшеницы определяли в конце кратковременной (10 суток) засухи. Значения коэффициентов парной корреляции рассчитывали по программе Excel.

Выявлено, что сопряженность процессов накопления биомассы с параметрами мезоструктуры листьев, CO_2 обмена, энергетики фотосинтеза и дыхания при нормальном увлажнении почвы и при засухе существенно меняется. Коэффициент парной корреляции (r) сырого веса (г/растение) с сухим весом (г/растение) в норме равно 0,29, а при засухе – 0,84 соответственно; сырой вес с площадью листьев ($м^2$/растение) в норме и засухе – 0,91/0,20 соответственно; сырой вес с параметрами мезоструктуры флагового листа: с числом хлоропластов (шт./$см^2$), с обьемом хлоропластов ($мкм^3/см^2$) и с обьемом единичного хлоропласта ($мкм^3$) в норме и засухе – 0,93/-0,50, -0,89/-0,59, 0,91/0,52 соответственно; сырой вес с параметрами CO_2 обмена (мкмоль/$м^2$·с): с видимым фотосинтезом – 0,33/0,67, с истинным фотосинтезом – 0,49/0,69, с темновым дыханием листа – 0,77/0,46, с фотодыханием листа – 0,68/0,58, с послесветовой ассимиляцией CO_2 – 0,21/0,61 и сырой вес с энергетическими параметрами дыхания и фотосинтеза: с энергией, выделяемой при дыхании флагового листа (мквт/г) – 0,87/-0,32, с тепловыделением листа (мквт/г) – 0,32/0,93, с U(мквт/г) – 0,08/-0,99, с энергетической эффективностью фотосинтеза – 0,78/-0,04, с квантовым расходом - -0,83/0,01. U - это разница между энергией, выделямой при дыхании и тепловыделением.

Оценка тесноты связи между сырым весом колоса и параметрами собственной мезоструктуры в норме и при засухе также показало изменение сопряженности изучаемых параметров: с числом хлоропластов - -0,84/-0,19, с объемом хлоропластов – 0,44/0,63, с объемом единичного хлоропласта – 0,83/0,25; вес колоса с параметрами CO_2 обмена колоса (мкмоль /г·с): с видимым фотосинтезом – 0,21/0,95, с истинным фотосинтезом – -0,42/0,90, с темновым дыханием - -0,61/-0,94; с параметрами энергетики дыхания колоса(мквт/г): с энергией, выделяемой при дыхании - -0,64/0,82, с тепловыделением - -0,05/0,76 и с U - -0,59/0,29. Эти данные показывают, что вес колоса при засухе больше, чем при норме зависит от функционирования собственных составляющих. Сырой вес колоса находится в сильной связи с параметрами фотосинтеза и дыхания флагового листа как при нормальном увлажнении, так и при засухе: с видимым фотосинтезом листа – 0,79/0,88, с истинным фотосинтезом – 0,90/0,92, с темновым дыханием листа – 0,98/0,68, с фотодыханием листа – 0,84/0,80 и теряет коррелированность при засухе с энергетической эффективностью фотосинтеза – 0,98/-0,13, с квантовым расходом - -0,99/0,13. Вес колоса коррелирует с весом растения как при засухе, так и при нормальном увлажнении почвы – 0,80/0,89.

В целом можно заключить, что наибольшая сопряженность как в норме так и при засухе существует между биомассой растений и обьемом одного хлоропласта – 0,91/0,52, с темновым дыханием листа – 0,77/0,45. Сырой вес колоса сильно коррелирует с видимым и истинным фотосинтезом флагового листа – 0,79/0,8 и 0,90/0,92 соответственно, и с темновым дыханием листа – 0,98/0,68. Таким образом, продукционный процесс растений зависит от совокупности сопряжения параметров метаболизма, обеспечивающих усиление или замедление роста, развития и продуктивности растений озимой пшеницы при изменении водного режима от оптимального до засухи.

РОЛЬ ОКСАЛАТА В МЕХАНИЗМАХ АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ РОДА *AMARANTHUS* К УСЛОВИЯМ Zn И Cd СТРЕССА

Oxalate role in mechanisms of *Amaranthus* plants adaptation to Zn and Cd stress

Ву В.З., Кучаева Л.Н., Попова Н.Ф., Осмоловская Н.Г.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; natalia-osm@mail.ru

Устойчивость растений к стрессовым воздействиям тяжелых металлов определяется функционированием ряда адаптационных механизмов, среди которых наряду с механизмами ограничения поступления металлов в клетку важная роль отводится механизмам хелатирования ионов ТМ в цитозоле и секвестирования ионов и/или ТМ комплексов в метаболически неактивные компартменты (Титов и др., 2014; Серегин и др., 2014; Verbruggen et al., 2009). Среди возможных хелаторов ТМ принципиальный интерес представляют органические кислоты, роль которых рассматривается преимущественно с позиции формирования внутриклеточных ТМ-комплексов, хотя не менее важным представляется механизм экстраклеточного хелатирования ТМ органическими кислотами, секретируемыми корнями растений (Meyer et al., 2009; Liang et al., 2913; Yang et al., 2013). В этой связи внимание уделяется, в частности, секреции малата и цитрата в условиях Cd воздействия у проса и кукурузы (Pinto et al., 2008), однако есть сообщения о возможной роли экскреции оксалата в повышении устойчивости риса (Yang *et al*., 2000) и томата (Zhu et al., 2011) к Pb и Cd.

Амарант относится к числу растений, отличающихся высоким содержанием в листьях растворимой и нерастворимой форм щавелевой кислоты, которая играет важную роль в процессах поддержания ионного гомеостаза в клетках листа (Осмоловская и др.. 2007). Нами с использованием метода газовой хроматографии (хроматограф-масс-спектрометр Agilent Technologies) и классических методов анализа оксалата было исследовано влияние разных концентраций Cd и Zn на формирование и расходование пулов оксалата в листьях и корнях растений амаранта видов *Amaranthus caudatus* и *Amaranthus cruenthus* из коллекции ВИР в зависимости от условий их культивирования. В норме оксалат в листьях амаранта присутствует преимущественно в водонерастворимой форме оксалата Ca и, отчасти, Mg при соотношении растворимой и нерастворимой форм в среднем 1:3. Растения амаранта проявляют стратегию эксклюдера, аккумулируя Cd преимущественно в корнях, и при низких концентрациях Cd (1-10 мкМ) поддерживают внутриклеточное содержание оксалата в основном на уровне контроля. Увеличение концентрации Cd в среде до 100 и 300 мкМ сопровождалось снижением содержания нерастворимой формы оксалата в зрелых и далее в ювенильных листьях при некотором увеличении содержания в них растворимой формы и одновременном сокращении пула растворимого оксалата, преобладающего в корнях.. Наряду с этим было установлено присутствие ряда органических кислот, включая оксалат, в экссудатах корней. Экзогенное внесение оксалата в форме растворимой Na соли ограничило до 1,5 раз приток Cd в корни и затормозило перенос Cd к листьям. Различия в ответных реакциях и химическом составе амаранта двух исследованных видов выразились в формировании большей биомассы и более высоких уровнях содержания растворимого и нерастворимого оксалата в листьях *Amaranthus caudatus* в сравнении с *Amaranthus cruenthus.* При этом у обоих видов содержание водонерастворимого оксалата оказалось выше при выращивании на растворе с высокой концентрацией NO_3^- (15 мМ), тогда как содержание растворимой формы оксалата, напротив, было выше при меньшей обеспеченности растений NO_3^- (5мМ). На фоне лучшей обеспеченности нитратом аккумуляция Cd в корнях *Amaranthus caudatus* была ниже в сравнении с *Amaranthus cruenthus* (2000 и 2700 мкг/г сухой биомассы соответственно). При воздействии Zn в концентрации 300 мкМ наблюдалась та же тенденция сокращения пула нерастворимого оксалата в листьях у обоих видов амаранта на фоне увеличения размера водорастворимого пула, что и в случае воздействия Cd, которая, однако, была выражена несколько сильнее. Отмечено, что под влиянием воздействия Cd в корнях *Amaranthus caudatus* наблюдается некоторое увеличение содержания сукцината и более заметное- малата, прирост в содержании которого был выражен значительно сильнее на фоне pH 4,5 в сравнении с pH 6,9 (до 20 и 5 мг-экв/100 г сухой биомассы соответственно). В листьях в отсутствии Cd содержание оксалата и кислот цикла ДТК оказалось значительно выше на фоне pH 6,9 и возрастало в ряду оксалат < сукцинат < малат. В присутствии Cd 1,2-1,5-кратный прирост содержания кислот в листе отмечался только на фоне pH 6,9, но не 4,5. Обобщение полученных данных дает основание предполагать возможную роль Cd-индуцированной мобилизации оксалата, его оттока из листьев и секреции корнями амаранта как механизма ограничения поступления ионов Cd в корни амаранта и обеспечения адаптации растений к Cd стрессу.

УЧАСТИЕ ГОРМОНОВ В РЕАКЦИИ РАСТЕНИЙ НА ПРИСУТСТВИЕ КОНКУРЕНТОВ

Role of hormones in reaction of plants to the presence of competitors

Высоцкая Л.Б., Кудоярова Г.Р.

Уфимский Институт биологии РАН, Уфа, Россия; vysotskaya@anrb.ru

Знание механизмов конкурентного взаимодействия между растениями может внести вклад в решение проблем, связанных с густотой стояния растений в посеве (полегание, снижение продуктивности). Известно, что реакция на присутствие соседних растений – потенциальных конкурентов проявляется еще до того, как они начинают непосредственно испытывать затенение, недостаток влаги и питания. Несмотря на интерес к этой проблеме, полученные на сегодня данные о роли фитохромного сигналинга об участии этилена и, в меньшей степени, - ауксинов и АБК не дают сколько-нибудь полного представления о реализации механизма восприятия соседей-конкурентов.

В наших лабораторных опытах растения салата, томатов, табака и арабидопсиса сажали в горшки по одному и по 3-5, моделируя конкуренцию. Самой быстрой реакцией, которую наблюдали еще до уменьшения площади листьев, было снижение потери воды конкурирующими растениями по сравнению с одиночно растущими. Реакцию устьиц наблюдали до появления лимитирующих гидравлических сигналов, концентрация нитратов в листьях также не отличалась у одиночных и конкурирующих растений в течение первой недели. АБК-дефицитные мутантные растения томатов *flacca* не проявляли устьичной реакции, у них не было признаков дефицита питания и торможения роста листьев. Следовательно, ни световой сигнал, ни дефицит питания и воды не были непосредственной причиной наблюдаемого в дальнейшем (2 недели) снижения массы конкурирующих растений салата, табака и арабидопсиса. Предположительно торможение роста у конкурирующих растений было следствием снижения устьичной проводимости, а значит и газообмена, которое могло быть результатом взаимодействия растений в почве. Отсутствие у мутанта *flacca* устьичной реакции говорит о вовлечении АБК в процессы регуляции работы устьиц в ответ на восприятие растением соседних растений. Тем не менее, мы не обнаружили изменения концентрации АБК в ксилеме у обычных растений томата при конкуренции. Но зарегистрированное защелачивание почвенного раствора (в результате поглощения нитратов из почвы в симпорте с водородом) и как следствие ксилемного сока предположительно может обеспечивать перераспределение АБК в клетках листа и в конечном итоге повлиять на регуляцию устьичной щели. Цитокинины также способны регулировать поведение устьиц. Изменяя содержание цитокининов у конкурирующих растений салата и пшеницы путем внесения в почву цитокининпродуцирующих бактерий, мы показали, что повышение урожайности растений пшеницы и поддержание роста растений салата при конкуренции связано с действием цитокининов. Они могут играть более важную роль на более поздних стадиях адаптации растений, когда уровень этих гормонов отражает доступность ресурсов. Роль этилена в реакции на соседей - конкурентов изучали на растениях исходной формы арабидопсиса экотипа *col* (Columbia) и мутанта *etr1*, потерявшего чувствительность к этилену. У *etr1*, в отличие от *col* растений, отсутствовало изменение скорости роста корней при конкуренции и дефиците питания, что, очевидно, было связано с их нечувствительностью к этилену. Еще один предпринятый нами подход для изучения роли этилена – снижение чувствительности к этилену у растений салата путем обработки их 1-метилциклопропеном (1-МЦП). Известно, что этилен может как способствовать закрытию устьиц, так и предотвращать закрытие, индуцируемое накоплением в них АБК. У растений салата, которые росли в климатическом кабинете с контролируемыми условиями, потеря чувствительности к этилену привела к повышению устьичной проводимости у конкурирующих растений до уровня одиночно растущих. При выращивании растений в теплице, где в течение суток наблюдали значительные колебания температуры и влажности, потеря чувствительности растений к этилену приводила к увеличению различий по устьичной проводимости между одиночно растущими и конкурирующими растениями. Измерения показали, что продукция этилена была выше у конкурирующих растений по сравнению с одиночными в климатическом кабинете, в то время как при более жестких условиях в теплице наоборот продукция этилена при конкуренции снижалась по сравнению с одиночными растениями. Очевидно, что этилен влияет на ростовую реакцию конкурирующих растений через регуляцию работы устьиц (масса побега коррелировала с устьичной проводимостью). Это очень важно для быстрого роста растений и захвата ими пространства в посевах. В то же время логично предположить, что этилен реализует свое воздействие на рост растений через взаимодействие с другими гормонами. Исследования влияния плотности стояния растений на распределение биомассы и содержание эндогенных гормонов показало вовлечение ауксинов, цитокининов и АБК в регуляцию ростового ответа на присутствие конкурентов. Накопление АБК в побегах и цитокининов в корнях, а также снижение содержания ауксинов в корнях предшествовало торможению роста побегов и корней растений в условиях конкуренции. У растений, обработанных 1-МЦП, у которых снижена чувствительность к этилену, обнаружено нарушение перераспределения этих гормонов, которое сопровождалось изменением ростового ответа на конкуренцию.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, грант № 14-04-00775.

ОСОБЕННОСТИ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ОБРАЗЦОВ РАСТИТЕЛЬНОГО МАТЕРИАЛА ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ХРАНЕНИЯ В КРИОБАНКЕ ИФР РАН

Recovery peculiarities of plant material specimens after long-term storage in IPP RAS cryobank

Высоцкая О.Н., Волкова Л.А., Урманцева В.В., Никишина Т.В., Балекин А.Ю., Бургутин А.Б., Носов А.М.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; cryo_ippras@mail.ru

Криобанк Института физиологии растений РАН был основан Александром Сергеевичем Поповым в 1982 г. по инициативе Раисы Георгиевны Бутенко. За три десятилетия сотрудниками нашего института была исследована криоустойчивость многочисленных образцов разнообразного растительного материала и сознаны оригинальные методы криосохранения, основанные на использовании технологии культивирования *in vitro*. Теперь криобанк растений ИФР РАН состоит из четырех отдельных коллекций, где сохраняют суспензионные культуры клеток, апексы земляники и других растений, изолированные из культивированного *in vitro* материала, семена орхидей 5 континентов, а также, семена других редких и исчезающих растений.

Более трех десятилетий тому назад были заморожены первые образцы криобанка и, после 25 лет хранения в жидком азоте, восстановили рост одного из этих образцов (культура клеток моркови посевной). В 2006 г. в International Journal of Refrigeration были опубликованы данные об этом успешном эксперименте. В сотрудничестве с Харьковским Институтом криобиологии и криомедицины сотрудники нашего института разработали программируемый замораживатель ЗРК-1 с автоматической инициацией кристаллизации внутри криопробирок с растительным материалом. Этот прибор использовали для медленного охлаждения суспензионных культур клеток ценных штаммов некоторых лекарственных растений и апексов растений ягодных культур перед помещением их в жидкий азот. Этот способ применяли для формирования в ИФР РАН криоколлекции суспензионных культур клеток различных растений. Два вида диоскорей (*Dioscorea balcanica* Ko anin, *D. caucasica* Lipsky), штаммы которых были заморожены с использованием ЗРК-1, были восстановлены после семилетнего криогенного хранения, о чем было опубликовано в 1994 г. Эти же образцы клеток диоскореи кавказской и диоскореи балканской восстановили рост после 26 лет сохранения в жидком азоте и сформировали каллусы с морфогенными признаками в 2015 г. После 27 летнего криогенного хранения, в 2014 г. восстановлен рост клеток суспензионной культуры люцерны (*Medicago sativa* L.). В 2013 г., после 13, 16 и 18 лет хранения, мы восстановили растения земляники нескольких сортов из апексов, которые также были заморожены в жидком азоте с использованием метода медленного охлаждения и приема инициации кристаллизации.

Криоколлекцию культивируемых клонов земляники (50 сортов) формировали с использованием другого метода криосохранения, разработанного и запатентованного в ИФР РАН. Из размноженных *in vitro* растений изолировали апексы, дегидратировали их в воздушной среде и замораживали в криопробирках прямым погружением их жидкий азот. После длительного криогенного хранения клоны 44 сортов земляники садовой и 1 сорта земляники лесной, замороженные с помощью этого метода, были успешно восстановлены *in vitro*. Кроме того, было отмечено, что регенерация растений из апикальных меристем, криосохраненных с помощью метода дегидратации, идет существенно быстрее, чем из тех же сортов меристематических верхушек, которые перед погружением в жидкий азот медленно охлаждали с помощью программируемого замораживателя. Метод криосохранения дегидратированных апексов земляники применяли с положительным результатом для криогенного замораживания апексов, изолированных из клонированных растений рябины, малины красной и ежевики, а также каллусных тканей некоторых других растений.

Важное место в криобанке ИФР РАН занимает первая и крупнейшая в России криоколлекция орхидей, где собраны семена многочисленных видов редких растений из различных климатических зон и континентов. Все виды, сохраняемые в этой коллекции, нуждаются в особых мерах охраны и входят в I и II приложения СИТЕС. 14 видов российских орхидей из криобанка ИФР РАН внесены в Красную Книгу Российской Федерации. Из семян, сохраняемых в жидком азоте, растения орхидей мы традиционно получаем *in vitro* на специальных питательных средах.

Таким образом, рост и развитие большинства образцов криобанка ИФР РАН, могут быть восстановлены только с использованием модифицированных методов культивирования *in vitro* растительного материала.

Работа по формированию криобанка ИФР РАН последние годы была поддержана Программами фундаментальных исследований Президиума РАН «Живая природа», «Биологическое разнообразие».

СИЛЬНЫЙ РАСТИТЕЛЬНЫЙ ПРОМОТОР Pro-SmAMP1 ИЗ СОРНОГО РАСТЕНИЯ *STELLARIA MEDIA*

Strong promoter Pro-SmAMP1 from a weed plant *Stellaria media*

Высоцкий Д.А., Ефремова Л.Н., Стрельникова С.Р., Ветчинкина Е.М., Комахин Р.А., Бабаков А.В.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия; biotech@iab.ac.ru

Промоторы с высокой транскрипционной активностью являются ценным инструментом для генетической инженерии растений. В настоящее время в биотехнологии растений широко используется вирусный конститутивный промотор CaMV35S. Однако в некоторых случаях его использование ограничено. Кроме того, этот промотор является вирусными и его использование в прикладной биотехнологии растений нецелесообразно с экологической точки зрения. Поэтому поиск новых растительных промоторов с высокой транскрипционной активностью, универсальных для разных видов растений, является актуальной задачей современной биотехнологии.

Ранее в сорном растении *Stellaria media* был идентифицирован ген *pro-SmAMP1*, кодирующий пептиды с антимикробными свойствами. Методом ПЦР в реальном времени было установлено, что в *S. media* этот ген демонстрирует высокий уровень экспрессии, сопоставимый с экспрессией гена актина мокрицы. Кроме того, показано, что его экспрессия на порядок повышается в ответ на обработку растений мокрицы конидиями фитопатогенов и элиситором метилжасмонатом. Поскольку за транскрипционную активность гена отвечает его промоторная область, нам стало интересно установить структуру промотора гена *pro-SmAMP1* и оценить его свойства в гетерологичных растениях.

Для анализа структуры промоторной области гена *pro-SmAMP1* была установлена ее нуклеотидная последовательность длиной более полутора тысяч пар нуклеотидов влево от точки инициации транскрипции. Поиск возможных регуляторных мотивов *in silico* с помощью программ PlantCARE и PLACE выявил ряд *cis*-элементов, характерных для сильных эукариотических промоторов.

С учетом расположения *cis*-элементов в последовательности промоторной области *pro-SmAMP1* был создан ряд ее 5'-делеционных вариантов для выявления минимальной длины промотора с высокой транскрипционной активностью и поиска важных регуляторных элементов. Все делеционные варианты промотора были клонированы в растительный экспрессионный вектор pCAMBIA 1381Z, в котором они контролировали экспрессию репоретного гена *gus*. В качестве контроля использовали генетическую конструкцию pMOG 35Sintgus, в которой ген *gus* находился под контролем вирусного промотора CaMV35S.

Методом агробактериальной инфильтрации растений *Nicotiana benthamiana* было установлено, что уровень активности GUS при использовании всех делеционных вариантов промотора pro-SmAMP1 был в несколько раз выше, чем при использовании вирусного промотора CaMV35S.

В трансгенных растениях табака *Nicotiana tabacum*, экспрессирующих репортерный ген *gus* под контролем всех делеционных вариантов промотора pro-SmAMP1, уровень активности репортеного белка был также существенно выше, чем при использовании вирусного промотора CaMV35S.

Однако, при воздействии метилжасмоната или суспензии фитопатогенных грибов значимых изменений в уровне активности GUS у всех трансгенных растений табака не наблюдалось. Таким образом, промотор pro-SmAMP1 является сильным, однако элементы, отвечающие за его индуцибельность, находятся вне изученной нами последовательности..

В настоящее время проводятся работы по клонированию и секвенированию промотора pro-SmAMP1 в области от полутора до трех тысяч пар нуклеотидов влево от точки инициации транскрипции.

Установление нуклеотидной последовательности промотора выполнено за счет частичной финансовой поддержки гранта РФФИ мол_а 14-04-31924. Создание и изучение агроинфильтрированных и трансгенных растений выполнено за счет средств субсидии №14.604.21.0028 (RFMEFI57614X0082).

ВЛИЯНИЕ ЗАСУХИ НА ПРОДУКТИВНОСТЬ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

Influence of the drought on summer soft wheat productivity

Гагаринский Е.Л., Степанов С.А.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского», Саратов, Россия
hanin-hariton@yandex.ru

Определение степени устойчивости яровой мягкой пшеницы к засушливым условиям ее выращивания в зоне Юго-востока европейской части России является актуальной проблемой для селекционеров, физиологов растений. Существенные колебания погодных условий Нижнего Поволжья не позволяют стабильно получать высокий урожай, но благоприятствуют созданию сортов, отличающихся уникально высокой засухоустойчивостью и способностью формировать зерно высокого качества.

Исследования проводились в полевых условиях селекционного севооборота НИИСХ Юго-Востока на группе из 43-х сортов *Triticum aestivum,* районированных в разные годы с момента создания селекционной станции. Отмечено, что с момента прорастания зерновки инициация конусом нарастания метамеров побега зависит от степени развития примордиев листьев и фазы пластохрона конуса, что определяется условиями развития зерновки в предшествующий год. У более засухоустойчивых сортов, как правило, конус нарастания эмбрионального побега зерновки находится в ранней фазе 4-го пластохрона, а длина примордиев листьев больше. В фенофазе первого листа, что обычно отмечается на 10-12 день с момента посева, конус нарастания формирует 5-ый или 6-ой метамер. В дальнейшем дифференциация сортов по фенофазе проростка и конуса нарастания побега может существенно различаться, что зависит, прежде всего, от температурного режима в этот период вегетации растений. В условиях резкого возрастания температуры наблюдается увеличение скорости роста листьев на фоне ускорения роста конуса нарастания, инициации затем метамеров зачаточного колоса. В условиях более низких положительных температур с момента посева длительность отдельных фенофаз проростков значительно возрастает, в то время как конус нарастания побега может продолжать закладывать новые метамеры. В итоге, спустя 13-17 дней с момента посева, на фоне истощения запасов эндосперма, может наблюдаться значительное варьирование сортов яровой пшеницы в разные годы по сопряженности роста листьев и функциональной активности конуса нарастания побега.

Особенности морфогенеза растений в период формирования метамеров вегетативной и генеративной зоны побега влияют на число листьев и колосков колоса в агропопуляции конкретного сорта. Как показали наши исследования минимальное число листьев главного побега у яровой пшеницы в условиях Юго-Востока – 6, максимальное – 9. В условиях засухи, как правило, у всех сортов доля растений с меньшим числом листьев значительно возрастает, что ограничивает фотосинтетический потенциал растений. Среднее число колосков в период исследования составляло от 9,87 (Саратовская 56) до 18,83 (Альбидум 32) шт.

На основании распределения растений по завершении вегетации на 6 классов отмечено, что в метеорологических условиях, близким к среднемноголетним, большая часть сортов по числу колосков относятся к 3-ему и 4-ому классам, меньшая – к 4-ому и 5-ому классам: Саратовская 60, Саратовская 68, Альбидум 28, Альбидум 32, Фаворит и ЮВ-4. В засушливых условиях наблюдается увеличение доли растений в агропопуляциях изучаемых сортов с числом колосков 2-го и 3-го классов.

Среди сортов саратовской селекции среднее число зерновок варьировало от 15,3 (Саратовская 56) до 38,8 (Прохоровка) шт. Определяющее влияние на их развитие оказывает площадь листьев, преимущественно средних и верхних метамеров. В условиях засухи площадь листовой поверхности значительно уменьшается, при этом наблюдается выраженная сортоспецифичность. Высокая температура и недостаток влаги в период цветения и эмбриогенеза зерновки приводили к тому, что практически у всех сортов, за исключением Эритроспермум 82/02 и Прохоровки, большая часть растений в агропопуляциях находились во 2-ом и 3-ем классах.

Масса зерновки среди исследуемых сортов составляла от 21,1 (Ершовская 32) до 38,8 (Саратовская 73) мг. В случае недостаточной влагообеспеченности в период налива зерновки большая часть сортов в агропопуляциях были представлены во 2-ом и 3-ем классах по массе зерновки. Однако отдельные сорта отличались большей устойчивостью к недостатку воды, что повышало число растений, относимых к 3-ему и 4-ому классам: Эритроспермум 82/02, Альбидум 43, Саратовская 29, Саратовская 36, Саратовская 58, Саратовская 62, Саратовская 64, Саратовская 70, Саратовская 71, Саратовская 73, Альбидум 29, Альбидум 31, Альбидум 32.

По результатам исследования можно отметить, что условия вегетации растений существенно отражаются на развитии семян, морфогенезе побега с момента их прорастания, сказываясь в итоге на распределении растений в агропопуляциях сортов по классам вариации количества колосков, числа и массы зерновок в колосе главного побега. В благоприятных условиях вегетации доля растений более высокого класса вариации каждого из элементов продуктивности увеличивается.

ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА C_3 (ДВУДОЛЬНЫЕ, ОДНОДОЛЬНЫЕ) И C_4 РАСТЕНИЙ НА ДЕФИЦИТ СВЕТОВОЙ ЭНЕРГИИ В СИНЕ-ЗЕЛЕНОЙ ЧАСТИ СПЕКТРА У СВЕТОДИОДНЫХ ОБЛУЧАТЕЛЕЙ

Peculiarities of responses of photosynthetic apparatus of C_3 (dicots monocots) and C_4 plants grown at LED to limited flux in blue-green of the spectrum

Гаевский Н.А.[1], Валиулина А.Ф.[1], Юнусова А.И.[1], Литвинчук А.Ю.[2], Рыков А.Г.[2]

[1] *Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Сибирский федеральный университет», Красноярск, Россия; nikgna@gmail.com*

[2] *Общество с ограниченной ответственностью «Сибирский инновационный технологический центр», Красноярск, Россия; litvinchuk24@yandex.ru*

Светофизиология – одно из первых направлений в истории становления физиологии растений как науки. Первоначально в ее задачу входило изучение роли зеленых и желтых пигментов в поглощении солнечного света, а также фотофизических и фотохимических процессов преобразования световой энергии. В результате были исследованы спектры действия фотосинтеза, обнаруженные эффекты световой (энергетической) и хроматической адаптации фотосинтетического аппарата. Позже – во второй половине XX века были исследованы различные варианты фотоморфогенеза растений, установлены рецепторы и трансдукторы светового сигнала, которые образуют сложную полихроматическую систему фоторегуляции. Менее изученным остается роль зеленого света. Теоретические успехи светофизиологии растений и их успешное практическое применение во многом зависят от светотехнических характеристик искусственных источников света. Именно они должны обеспечить необходимое соотношение различных спектральных участков света для достижения желаемого результата. Перспектива создания искусственных источников света нового поколения для экономически выгодного выращивания различных видов растений, обеспечивающих максимальный выход необходимой продукции, в ближайшие годы может быть реализована на основе мощных светоизлучающих диодов (СИД) различного спектрального состава. Линейка современных СИД позволяет дифференцировать доступный растениям световой диапазон на спектральные участки от ультрафиолетового до ближнего инфракрасного света. С одной стороны, это открывает возможность для управления сложной системой фотоморфогенеза растений на основе накопленных знаний, с другой стороны, что особенно важно, качественно изменить направление исследований в области светофизиологии растений.

Объектами исследования были следующие растения: однодольные C_3 - овес (*Avena sativa*), пшеница (*Triticum aestivum*), ячмень (*Hordeum vulgare*); однодольные C_4 – кукуруза (*Zea mays*), просо (*Panicum miliaceum*), суданская трава (*Sorghum × drummondii*); двудольные C_3 - кабачок (*Cucurbita pepo*), подсолнечник (*Helianthus annuus*), огурец (*Cucumis sativus*), томат (*Solanum lycopersicum*). Для выращивания растений использовали два светодиодных светильника 15 Вт (ООО СибИТЦ, г. Красноярск) «белого» и «красного» света. Световой поток в области ФАР на уровне листьев составлял для «красного» источника 233 мкмоль фотонов·м$^{-2}$·с$^{-1}$, для белого источника – 222 мкмоль фотонов·м$^{-2}$·с$^{-1}$. Соотношение световых потоков от «красного»/«белого» источников в шести спектральных диапазонах (нм): 400-490; 490-590; 590-630; 630-710; 710-900; >900 составляли – 0,089/0,146; 0,000/0,278; 0,109/0,227; 0,510/0,201; 0,223/0,130; 0,059/0,017. Растения выращивали в изолированных от дневного света боксах (30 дм^3). Однодольные растения были выращены на керамзите с добавлением питательного раствора по Хогланду в разведении 1:10; двудольные – в почве с 70% увлажнением. В течение 2-3 недель (до появления второго настоящего листа) поддерживали фотопериод – 9 ч. Содержание хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов определяли спектрофотометрическим методом, активность фотосинтеза – на основе флуоресценции хлорофилла на приборе IMAGING-PAM M-Series (WALZ, Германия) в режиме регистрации «быстрой световой кривой).

В ходе исследования установлено, что все исследованные виды в той или иной степени чувствительны к изменению спектрального состава света. Морфологические изменения у однодольных растений проявлялись в меньшей степени, у двудольных. Подсолнечник в условиях красного света формировал длинный гипокотиль и короткое междоузлие между семядолями и первыми листьями, у томата и кабачка уже первые настоящие листья были мелкими. Дефицит зеленых и желтых пигментов наблюдали у всех изученных видов двудольных C_3 растений (листья кабачка и огурца были этиолированными). Фотосинтетическая активность у всех растений, выращенных на красном свету, заметно уступала растениям, выращенным на белом свету. Скорость фотосинтетического транспорта электронов в условиях светового насыщения оказалась наиболее объективным показателем для выявления индивидуальных реакций растений на дефицит световой энергии в сине-зеленой области спектра. Исследованные виды по степени реакции можно разделить на чувствительные (C_3 виды двудольных) и устойчивые (виды однодольных). В последней группе наименее зависимы от дефицита сине-зеленой части спектра – кукуруза, просо и сорго (C_4 растения). В будущем эти различия необходимо учитывать при разработке эффективных режимов выращивания растений.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ, грант 15-44-04132.

РОЛЬ ФЕРМЕНТОВ УГЛЕВОДНОГО И АЗОТНОГО ОБМЕНОВ В ИНДУКЦИИ АНОМАЛЬНОГО МОРФОГЕНЕЗА ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ НА ПРИМЕРЕ КАРЕЛЬСКОЙ БЕРЕЗЫ

Role of the enzymes of carbohydrate and nitrogen metabolism in the induction of abnormal morphogenesis of trees on the example of Karelian birch

Галибина Н.А., Новицкая Л.Л.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт леса Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия; galibina@krc.karelia.ru

Оригинальная текстура древесины карельской березы (*Betula pendula* var. *carelica*) формируется в результате отклонений в деятельности камбия, при этом не запускается программа гибели клеток, приводящая к формированию сосудов и трахеид ксилемы и ситовидных трубок флоэмы. Дифференцирующиеся камбиальные производные сохраняют протопласт и превращаются в клетки запасающей паренхимы, которые накапливают большие количества липидов и таннинов (Новицкая, 2008). Формирование структурных аномалий древесины и коры у карельской березы связаны с повышением уровня сахарозы во флоэме в период активной деятельности камбия (Новицкая, Галибина, 2011). Утилизация сахарозы в растительных тканях происходит с участием ферментов ее метаболизации – инвертазы и сахарозосинтетазы. С одной стороны, эти ферменты способствуют созданию градиента концентрации сахарозы в месте разгрузки флоэмы, необходимого для поступления ассимилятов в камбиальную зону. С другой стороны, соотношение активностей этих ферментов определяет включение расщепляемой ими сахарозы в различные метаболические пути и, как следствие, может определять направление дифференциации камбиальных производных, соотношение объема тканей флоэмы и ксилемы и интенсивность протекающих в них ростовых процессов.

Изучение ферментов метаболизации сахарозы на разновозрастных растениях обычной березы повислой (*B. pendula* var. *pendula*) и карельской березы (40 лет, 20–26 лет, 6–8 лет, 1-летние сеянцы) показало, что развитие структурных аномалий проводящих тканей у карельской березы наблюдается на фоне низкой активности сахарозосинтазы в ксилеме и высокой активности апопластной инвертазы во флоэме, по сравнению с обычной березой повислой, и, следовательно, связано с интенсивным гидролизом сахарозы в апопласте (Галибина и др., 2015). Более того, уменьшение степени узорчатости древесины ствола в ряду растений карельской березы «сильный узор – средний узор – слабый узор» коррелирует со снижением метаболизации сахарозы по инвертазному пути и увеличением ее метаболизации в тканях ксилемы по сахарозосинтазному пути. Таким образом, в результате активной работы СС при достаточном уровне углеводных метаболитов в стволе древесных растений идет интенсивный прирост ксилемы. В связи с этим возникает вопрос, какие факторы могут влиять на снижение активности этого фермента в ксилеме карельской березы в период активного роста.

Помимо сахаров для нормального роста растения необходимы нитраты, которые не только индуцируют ассимиляцию азота в растении, но и могут перепрограммировать углеродный метаболизм в направлении создания более благоприятных условий для этой ассимиляции (Crawford, 2006; Chikov et al., 2003; Chikov, Bakirova, 2004 и др.). В результате многолетних исследований условий произрастания карельской березы установлено, что ее ареал не распространяется на плодородные почвы (Новицкая, 2008), причиной чего может быть влияние высокого уровня азотного питания. Влияние избытка нитратов на метаболический статус тканей ствола изучали на 6–летних растениях 2-х исследуемых форм березы повислой, произрастающих в одинаковых почвенно – климатических условиях на Агробиологической станции Карельского научного центра РАН в 2 км от Петрозаводска (61° 45’ с.ш., 34° 20’ в.д.). Влияние плодородия почвы на активность ферментов метаболизации азота в тканях ствола у карельской березы проводили в культурах карельской березы (25–26 лет), созданных на дерново-средне-подзолистых и бедных супесчаных почвах сеянцами, выращенными из семян от контролируемого опыления плюсовых деревьев. Установлено, что внесение избытка нитратов в почву стимулирует активность СС в ксилеме обычной березы повислой и, наоборот, сильно подавляет активность СС в ксилеме карельской березы, что отрицательно влияет на прирост древесины и, соответственно, формирование узора. Изучение культур карельской березы в условиях достаточно бедных почв Карелии показало, что насыщенность текстуры древесины пропорциональна содержанию доступного азота в почве и коррелирует с повышением метаболизации сахарозы во флоэме. На почвах с недостатком азотного питания у растений обычной березы повислой возрастает ассимиляция азота в тканях ствола (повышение активности NR), что свидетельствует о ее адаптации к широкому диапазону почвенных условий.

Впервые установлена зависимость между степенью насыщенности текстуры древесины карельской березы и уровнем доступного азота в почве. Выявлен диапазон содержания азота, способствующий лучшему проявлению узорчатости древесины. Показано, что сильный дефицит азота и его избыток приводят к увеличению восстановления нитратов нитратредуктазой в тканях ствола. Повышение ассимиляции нитратов при дефиците азота тормозит ростовые процессы и развитие структурных аномалий (снижение активности сахарозосинтазы в ксилеме и инвертаз во флоэме), при его избытке ведет к нормализации строения тканей ствола (снижение активности инвертаз во флоэме).

КЛИМАТИЧЕСКИЙ АДАПТОГЕНЕЗ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Climate adaptogenesis of higher plants

Гамалей Ю.В.

Ботанический институт им. В.Л.Комарова РАН, Санкт-Петербург, Россия; ygamalei@mail.ru

Разнообразие ископаемых и современных форм высших растений вторично относительно разнообразия экотопов. Отчего гигантские поликарпические долгожители палеогена в неогене сменились эфемерными монокарпическими карликами? Небольшой и функционально эффективный геном древесных растений у сменивших их трав оказался кратно более крупным и функционально неэффективным? Почему переход от деревьев к травам потребовал сброса специализации? Формы, выдвинутые в аэротоп, были вынуждены снова погрузиться в почву или воду? Не потому ли, что климат в кайнозое резко поменялся от оптимального, «оранжерейного» для высших растений в палеогене, к экстремальному, «ледниковому» в неогене?

Найденные у деревьев и трав различия температуры циркулирующей в сосудах жидкости – показатель того, что термо- и криофилия развивались как зависимые от источника воды омбро- и гляциофилия. Вода из теплой и постоянно доступной в палеогене в неогене становится холодной и доступной только сезонно. В результате бессезонные древесные формы палеогена постепенно сменяются сезонными травами неогена, а лесные сообщества – луговыми. Новые формы (сезонные травы) и новые экосистемы (луга) возникли в условиях холодного климата поднимающихся горных систем в результате компенсаторной замены эффективного, но чувствительного к холоду эндоплазматического углеводного пищевого тракта на неэффективный, энергозатратный, но свободный от температурной зависимости экзоплазматический (апопластный).

Разработана комплексная диагностика форм омбро- и гляциофилии, включающая признаки разных уровней: морфологические, гистологические, цитологические, молекулярные. Зачем? Неужели морфологические недостаточны для классификации биоморф? Морфология пластична. Тканевые, клеточные, молекулярные признаки, как правило, более консервативны. Особого внимания заслуживают те из них, которые не способны к возврату при вторичных реверсиях под влиянием флуктуаций климата или собственной миграции видов. Сталкиваясь с модифицированными вторичными формами деревьев и трав, исследователь часто оказывается в затруднении определить форму или установить направление ее эволюции по морфологическим признакам. Не полная обратимость признаков внутренней структуры позволяет использовать их в качестве дополнительной информации для уточнения времени и места происхождения таксона, его предковых форм. По нашим наблюдениям, структура углеводного пищевого тракта дает такую возможность. Методология подхода проверена на материале эволюционных рядов растительных форм из нескольких десятков наиболее интересных с этой точки зрения семейств двудольных.

Сравните высокое раскидистое дерево, прекрасное, тенистое, комфортное для птиц, для вас, и цветущую былинку травы, изящный пустячок. Что за ваятель у таких разных тварей? Творец? В фигуральном смысле. Но ответ не научен. Научно и точно: климат, прежде всего, температура. Этот ваятель вполне владеет искусством формовки. Контролируя свойства цитоскелета, температура циркулирующей по растению жидкости управляет формообразованием. Регулирует подвижность транспортных потоков, их пространственное распределение по точкам роста. Следствие – тот или иной алгоритм ростовых процессов, основанное на нем соотношение надземных и подземных органов, великое множество форм, выдуваемых как водные шары за счет осмотического давления транспортируемых жидкостей под контролем цитоскелета, та или иная обратимость их признаков в ответ на периодические изменения климата. Различия организации углеводного пищевого тракта – эндоплазматического у деревьев и экзоплазматического у трав – были обнаружены 40 лет назад. На понимание их связи с особенностями климата и источников воды, доступной для растений в палеогене и неогене, ушли годы. Выяснив климатические факторы, контролирующие развитие растительных форм, легко использовать их для экспериментального морфогенеза.

Законы термодинамики для всех форм жизни одинаковы. Есть основания полагать, что по некоторым параметрам, имеющим климатическую природу, высшие растения и животные могли иметь параллельные ответные реакции на температурные изменения в кайнозое. Таким параметром могла быть температура межклеточной среды, контролирующей распределение трофических, регуляторных и гормональных соединений, синхронизирующих процессы белкового синтеза, фотосинтеза, дыхания. У высших растений она понизилась на 10-12°С. Судя по составу изотопов кислорода в раковинах моллюсков, эта величина соответствует снижению температуры вод мирового океана на рубеже палеогена и неогена. Аналогичный температурный диапазон различий характерен для некоторых групп термофильных и криофильных животных. По аналогии с клеточными системами животных, в клеточных системах растений, возможно, тоже стареют не сами клетки. Они имеют возможность обновляться неограниченно. С возрастом ослабевает транспортная и синхронизирующая функции пищевого тракта. Снижается сократительная способность актомиозинового цитоскелета, контролирующего его подвижность.

ПЕПТИДЫ CLE В РАЗВИТИИ КОРНЯ У РЕДИСА (*RAPHANUS SATIVUS* L.)

CLE peptides in root development in radish (*Raphanus sativus* L.)

Ганчева М.С., Додуева И.Е., Лутова Л.А.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; vaiagan@mail.ru

Пептиды CLE являются универсальными регуляторами деления и дифференцировки клеток в различных типах меристем растений, таких как апикальные меристемы побега и корня, латеральные меристемы, клубеньки и галлы. Было предположено участие пептидов CLE во вторичном росте корня у редиса, а также при образовании другого типа меристем – спонтанных опухолей, которые образуются на корне некоторых линий редиса из генетической коллекции СПбГУ. Нами были идентифицированы у редиса 19 генов *RsCLE* – гомологов генов *CLE Arabidopsis thaliana*. При анализе экспрессии генов *RsCLE* на разных стадиях развития растений были выявлены гены, уровни экспрессии которых меняются при вторичном росте корня и спонтанном опухолеобразовании. Более детальный анализ экспрессии этих *RsCLE* в разных тканях корнеплода показал разный пространственный характер их экспрессии, при этом для каждого изучаемого *RsCLE* был выявлен свой максимум экспрессии – в камбии, в зоне дифференцировки сосудов на периферии ксилемы, в месте образования меристематических очагов в центральной части ксилемы. Таким образом, предполагается, что выявленные нами гены *RsCLE* участвуют в контроле разных процессов, имеющих место при вторичном росте корня (пролиферация клеток камбия, дифференцировка проводящих элементов из клеток камбия, закладка вторичных меристематических очагов в центре ксилемы). В дальнейшем были созданы конструкции для сверхэкспрессии генов *RsCLE,* с помощью которых было показано, что сверхэкспрессия определенных *RsCLE* действительно вызывает изменение количества элементов ксилемы и меристематических очагов. Сходные данные получены в опытах по обработке растений экзогенными CLE-пептидами. Отмеченное нами изменение уровней экспрессии ряда генов *RsCLE* в ответ на экзогенную обработку синтетическими CLE- пептидами позволяет предположить взаимодействие разных пептидов CLE в «балансировке» процессов вторичного роста корня. Полученные нами данные впервые позволили предположить участие нескольких CLE-пептидов разных групп в развитии корнеплода – процесса, генетический контроль которого изучен достаточно слабо.

Работа выполнена при поддержке грантов СПбГУ 1.38.229.2014 и 1.38.676.2013, грантов РФФИ 14-04-00591а и 15-34-20071.

ВЛИЯНИЕ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА МЕТАБОЛИЗМ МИТОХОНДРИЙ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА ПРИ СТРЕССАХ

Effects of salicilic acid on a metabolism of mitochondria of sprouts of peas at stresses

Генерозова И.П., Шугаев А.Г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; igenerozova@mail.ru

Салициловую кислоту относят к эндогенным гормоно-подобным соединениям, которые влияют регуляторно на многие физиологические процессы в растениях. Было также показано, что экзогенная обработка салициловой кислотой (СК) семян или растений может вызвать или усилить протекторный эффект в ответ на воздействие биотических или абиотических факторов, влияющих на развитие стрессовых состояний. Мы поставили цель изучить, способна ли обработка семян СК оказать адаптивное действие в условиях, эффект от воздействия которых мы изучаем уже несколько лет? На основании известных нам литературных источников мы выбрали схему воздействия СК, на основании которой семена обрабатывались в начале замачивания 0,05 мМ салицилатом Na в течение 8 ч. Неблагоприятными факторами являлись обезвоживание тканей проростков и пониженная до 15°С температура, которые действовали раздельно или совместно. Использовали этиолированные проростки гороха сорта Флора 2, которые выращивали 2 суток при 25°С на влажной фильтровальной бумаге, затем переносили на сутки на сухую фильтровальную бумагу (Зас), либо на 15°С (Х), либо в условия совместного действия этих факторов (Х-Зас). Затем проростки восстанавливались от действия неблагоприятных факторов в контрольных условиях в течение 2 суток. Контролями служили проростки необработанных СК семян, подвергшиеся тем же воздействиям, а также проростки необработанных и обработанных СК контрольных семян, не подвергшихся неблагоприятным воздействиям.

Поскольку одной из причин формирования стрессового состояния является нарушение работы митохондрий и усиление генерации активных форм кислорода, в центре нашего внимания была реакция митохондриального метаболизма на неблагоприятные воздействия. Митохондрии из эпикотилей проростков выделяли сразу по окончании воздействия и после двух суток восстановления проростков в контрольных условиях.

Обработка семян СК в контрольном варианте не повлияла на скорость окислении малата с глутаматом и сукцината и вовлеченность (долю) дыхательных путей, выраженную в процентах. Влияние СК на эти параметры проявилось в условиях стрессовых воздействий и восстановления. Так, если в условиях холодовой обработки происходило торможение скорости окисления субстратов в состоянии 3, то СК вызвала в этих условиях заметное превышение скорости окисления субстратов по сравнению с обработанным СК контролем и необработанным холодовым вариантом.. Также возрос процент цитохромного дыхания, который без СК значительно снижался по сравнению с контролем. Рост доли цитохромного дыхания отмечен не только после Х, но и после З и Х-З. При сравнении с необработанными СК вариантами, при окислении малата с глутаматом после засухи % цитохромного длыхания стал выше - с 54,5 до 96%, при окислении сукцината – с 30 до 93,5%. Также после Х-Зас на 180% вырос процент цитохромного дыхания при окислении сукцината.

В некоторых случаях наблюдалось снижение скорости окисления субстратов в условиях восстановления по сравнению с необработанными СК вариантами, особенно при окислении малата с глутаматом, хотя доля цитохромного дыхания при этом не изменялась.

Неожиданным и оригинальным было резкое возрастание величины дыхательного контроля по Чансу, особенно при окислении НАД-зависимых субстратов у митохондрий, выделенных из проростков как сразу после воздействия Х, так и последующего выдерживания проростков при нормальной температуре.

Известно, что СК может повышать устойчивость тканей растений к действию окислительного стресса, который развивается под влиянием абиотических факторов. Судя по содержанию МДА в тканях эпикотилей, у проростков из семян, обработанных СК, картина не изменилась по сравнению с необработанными семенами сразу после З и Х-З и после реабилитации проростков. Как и в случае без обработки СК, после З окислительный стресс возрастал, тогда как после Х-З он отсутствовал, и начал развиваться только в период реабилитпции проростков, после прекращения действия этого неблагоприятного фактора. В отсутствии СК после Х картина была такой же, как после Х-З, но обработка СК внесла коррективы в реакцию на холодовое воздействие. Сразу после окончания холодового воздействия содержание МДА резко возросло, составив почти 300% от контроля, но после периода восстановления оно упало, не превысив 50% от контроля. Одной из причин резкого возрастания генерации активных форм кислорода после холодового воздействия может быть значительный рост скорости окисления субстратов, который также генерировался предобработкой семян СК.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ (проект № 13-04-01828).

ДЫХАТЕЛЬНЫЙ МЕТАБОЛИЗМ МИТОХОНДРИЙ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА ПОСЛЕ СТРЕССОВ И ВОССТАНОВЛЕНИЯ

Respiratory metabolism of mitochondria of pea sprouts after stresses and recovery

Генерозова И.П., Шугаев А.Г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; igenerozova@mail.ru

Отклонения погодных условий от климатических норм, которым растения постоянно подвергаются в естественной среде, вызывают реакцию, направленную на защиту от повреждения и восстановление нормального метаболизма в условиях реабилитации. В работе мы исходили из того, что именно восстановительная способность является наиболее полноценным мерилом эффективности защитных механизмов в ответ на повреждающие действия факторов среды.

В центре внимания была дыхательная активность митохондрий. Целью работы было выявить стресс-зависимость метаболизма митохондрий в условиях действия и последействия неблагоприятных факторов (НФ) на растения. 2 дневные этиолированные проростки гороха сорта «Флора 2», выращенные при 25°С, помещали на 1 сутки на сухую фильтровальную бумагу (вариант «засуха» - Зас) или пониженную температуру 15°С(вариант «холод» - Х), действующие раздельно или совместно. Митохондрии выделяли из эпикотилей сразу по окончании действия НФ, и после 2-суточной реабилитации проростков в исходных условиях, когда восстанавливалось процентное содержание воды в тканях. Мы предполагали, что обезвоживание является более сильным повреждающим фактором, чем пониженная на 10°С температура, которая даже могла бы ослабить негативный эффект обезвоживания при их совместном применении (вариант «холод-засуха» Х-Зас).

Полученные результаты показывают, что вследствие отмеченных воздействий, на фоне торможения роста и увеличения водного дефицита эпикотилей проростков, были снижены ключевые параметры дыхательного метаболизма митохондрий. В частности, существенно упали скорости окисления основных дыхательных субстратов: малата (в присутствии глутамата) и сукцината. При этом скорость активного или фосфорилирующего окисления этих субстратов (в состоянии 3) сильнее всего подавлялась при действии Зас. Снижалась активность основного сопряженного цитохромного пути окисления (Цит) в дыхательной цепи митохондрий, и во всех случаях, за исключением окисления сукцината при Зас, значительно увеличивалась активности альтернативного нефосфорилрующего пути окисления (Альт), катализируемого альтернативной CN-резистентной оксидазой. Обращает на себя внимание более сильное действие НФ на Цит при окислении сукцината, а также резкая активация Альт и остаточного дыхания (Ост) при окислении малата при Х-Зас. Величина дыхательного контроля по Чансу (ДК), свидетельствующего о прочности сопряжения процессов окисления и фосфорилирования в ЭТЦ, снижалась почти вдвое, и особенно заметно при окислении малата после действия засухи.

Двухдневное восстановление проростков в контрольных условиях способствовало значительному восстановлению доли Цит и снижению доли Альт пути окисления в дыхании митохондрий при окислении обоих субстратов. При этом абсолютная скорость Цит дыхания оставалась ниже, а Альт дыхания выше контрольных значений, за исключением окисления сукцината после Х-Зас. Следует также отметить, что в этот период заметно снижалась скорость Ост, природа которого остается неизвестной. Величина ДК увеличивалась в ходе восстановления проростков при окислении малата, особенно после совместного действия НФ, но она мало изменялась при окислении сукцината. В целом в ходе реабилитации проростков прочность сопряжения процессов окисления и фосфорилирования в митохондриях восстанавливалась лишь частично.

Неполное восстановление дыхательного метаболизма побудило нас оценить величину окислительного стресса в тканях эпикотилей путем определения в них уровня малонового диальдегида (МДА), маркера перекисного окисления липидов (ПОЛ). Результаты показали, что за время неблагоприятных воздействий (одни сутки), только после действия Зас наблюдалось существенное увеличение уровня МДА (в 1.5 раза по сравнению с 3-х дневным контролем). После действия Х и Х-Зас уровень ПОЛ практически не менялся. Интересно, что за период 2-х дневного восстановления проростков после Х и Х-З уровень ПОЛ вырос соответственно в 1,5 и 1,3 раза.

Таким образом, 1) впервые исследовано восстановление метаболической активности выделенных митохондрий при возвращении растений к нормальным условиям выращивания. Показано, что наиболее быстро происходило восстановление качественной составляющей дыхания, состоящей в увеличении активности и вклада цитохромного пути окисления, и снижении уровня альтернативного нефосфорилирующего окисления. Наиболее быстро оно происходило после совместного действия НФ; 2) впервые показано, что после прекращения действия используемых НФ, включающих действие умеренного охлаждения, в тканях проростков начинал развиваться окислительный стресс, который практически отсутствовал в период воздействия НФ, о чем свидетельствовало увеличение уровня МДА. При этом наименьший окислительный стресс наблюдался после совместного действия холода и засухи.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ (проект № 13-04-01828).

ДИАГНОСТИКА УСТОЙЧИВОСТИ АССИМИЛЯЦИОННОГО АППАРАТА *PINUS SYLVESTRIS L.* К ДЕЙСТВИЮ ВЫСОКИХ ТЕМПЕРАТУР

Investigation of the stability of the assimilation apparatus in *Pinus sylvestris* L. to high temperatures

Гетте И.Г.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Сибирский федеральный университет», Красноярск, Россия; getteirina@yandex.ru,

Многие ученые обеспокоены увеличением частоты лесных пожаров. Лесные пожары являются одним из важнейших экологических факторов, которые влияют на трансформацию лесных экосистем, проявляющеюся через изменение структуры и породного состава лесов, хода роста, продуктивности и других характеристик древостоя. На территории Сибири ежегодно регистрируется до 30 тыс. лесных пожаров, охватывающих площадь около 10-12 млн. га. Одним из малоизученных вопросов, имеющим важное практическое значение, является определение продолжительности сохранения акклимационных эффектов у компонентов лесных экосистем, в частности древостое. Цель работы заключалась в оценке устойчивости и восстановительного периода древостоев сосны обыкновенной к послепожарным условиям, в зависимости от возраста пожара и класса возраста древостоя.

Район исследования находится в среднетаежной подзоне Приенисейской Сибири в районе п. Зотино (60˚с.ш., 90˚в.д.) Туруханского района Красноярского края. В качестве объекта исследования был выбран сосняк кустарничково-лишайниково-зеленомошный. В работе было рассмотрено три опытных участка (ОУ), разного послепожарного возраста. Каждый ОУ включал пробную площадь с низовым пожаром, и контроль, участок, не затронутый пожаром. На каждой пробной площади были выбраны по 5 модельных деревьев сосны обыкновенной. Опытный участок 1 – возраст пожара 3 года, класс возраста древостоя II. Опытный участок 2 – возраст пожара 9 лет, класс возраста древостоя II. Опытный участок 3 – возраст пожара 9 лет, класс возраста древостоя V

Для оценки устойчивости древостоев и восстановительного периода к послепожарным условиям мы определяли параметры замедленной флуоресценции, отражающие фотосинтетическую активность. Параметры замедленной флуоресценции, определяли на флуориметре «Фотон –10». Для оценки послепожарного состояния деревьев мы проводили нагрев срезанных побегов при температурах 43˚ С, 45˚С и 47˚С, данные температуры не являются летальными для клетки. Длительность нагрева составляла 10 минут. Результаты замедленной флуоресценции при комнатной температуре (24˚С) у всех образцов находились примерно на одном уровне, однако при нагревании отмечалось изменение активности фотосинтеза в различной степени, в зависимости от опытного участка. Так например, 10-минутный нагрев при 43˚С, 45˚С и 47˚С образцов с ОУ1, привел к большему подавлению фотосинтеза хвои деревьев, подвергавшихся конвекционному нагреванию при низовом пожаре 2012 г. В результате сравнения показателей замедленной флуоресценции побегов с ОУ 2 и 3, на которых был отмечен низовой пожар 9 летней давности, отличающихся лишь по классам возраста соснового древостоя показало что, в отличие от показателей с ОУ1 значения замедленной флуоресценции хвои с деревьев подвергавшихся огневому воздействию заметно выше относительно показателей с деревьев контрольных участков, что может свидетельствовать об увеличении фотосинтетической активности в процессе послепожарной регенерации.

Содержание пигментов может дать ценную информацию о физиологическом состоянии листьев. Количество фотосинтетических пигментов определяли с помощью спектрофотометра SPEKOL1300 Analytik Jenna AG после экстракции в 85%-м ацетоне. Из полученных данных, отмечено проявление адаптационной перестройки, направленное на сохранение и увеличение пигментной системы в хлоропластах для более взрослого древостоя, перенесшего действие нескольких пожаров.

Таким образом, анализируя полученные данные, можно предположить, что для условно здоровых деревьев, без пожарных подсушин, в естественных условиях при повреждении огнем, для успешной репарации фотосинтеза и пигмент-белового комплекса важны как длительность послестрессового периода, так и возраст древостоя.

ДИНАМИКА АГРЕГИРОВАННОСТИ СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК ЖЕНЬШЕНЯ ЯПОНСКОГО *PANAX JAPONICUS* VAR. *REPENS* ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ В КОЛБАХ

Aggregation dynamics in cell-suspension culture of *Panax japonicus* var. *repens*

Глаголева Е.С., Кочкин Д.В.

Московский государственный университкт имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия
glagoleva.elena@gmail.com

Культура клеток высших растений является уникальной, экспериментально созданной системой, одной из фундаментальных характеристик которой является высокая степень гетерогенности на всех уровнях ее организации (генетическом, биохимическом и т.д.). В связи с этим, успешное изучение различных процессов в культурах клеток растений должно быть неразрывно связано с описанием их протекания в различных клеточных субпопуляциях (фракциях). Например, в литературе накоплены данные, свидетельствующие о том, что различающиеся по степени агрегированности (размер/состав клеточных агрегатов) фракции культур клеток некоторых растений в разной степени способны к синтезу и накоплению вторичных метаболитов.

В задачу настоящего исследования входило изучение изменения фракционного состава (по критерию агрегированности) в течение цикла выращивания в колбах суспензионной культуры клеток женьшеня японского *Panax japonicus* var. *repens* – продуцента тритерпеновых гликозидов – гинзенозидов. Фракционирование культуры клеток осуществляли с помощью тканных и железных сит с разными размерами пор (53, 90, 200, 250, 500, 800 мкм). Для полученных фракций, обогащенных клеточными агрегатами определенных размеров, определяли содержание сырой и сухой биомассы и состав гинзенозидов.

Полученные результаты свидетельствуют, что на протяжении всего цикла выращивания в колбах, популяция клеток японского женьшеня в основном состояла из агрегатов с размерами в пределах 250-500 мкм (по сырой биомассе эта фракция составляла на разные сутки культивирования от 46 до 60% всей популяции). Содержание фракции клеточных агрегатов с размерами в пределах 500-800 мкм колебалось в диапазоне 14-24% (по сырой биомассе). Фракции агрегатов клеток с размерами мене 250 мкм и более 800 мкм в сумме составляли на разные сутки культивирования от 20 до 28% всей популяции (по сырому весу биомассы). Интересно, что предварительный фитохимический анализ (ТСХ, ВЭЖХ) не выявил существенных различий в составе гинзенозидов в полученных фракциях клеточных агрегатов.

Таким образом, установлено, что суспензионная культура клеток *P. japonicus* var. *repens* на протяжении цикла выращивания в колбах характеризуется достаточно стабильным фракционным составом (по критерию размеров клеточных агрегатов) с преобладанием агрегатов с размерами в пределах 250-500 мкм. Кроме того, показано довольно равномерное распределение гинзенозидов по различным клеточным фракциям. Однако этот факт требует дополнительного уточнения.

ПОИСК КОМПОНЕНТОВ ЦЕПИ ПЕРЕДАЧИ СИГНАЛА ИОНА НАТРИЯ У *ARABIDOPSIS THALIANA*

The search for sodium ion signal transduction elements in *Arabidopsis thaliana*

Глаголева Е.С.[1], Лабунская Е.А.[1] , Лотова Ю.Д.[1] , Остерман И.А.[2] , Бибикова Т.Н.[1]

[1] *Московский государственный университ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*
glagoleva.elena@gmail.com

[2] *НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*
bibikova@mail.bio.msu.ru

Способность растений своевременно корректировать свой метаболизм в ответ на внешние воздействия является обязательным условием их выживания. Даже незначительное увеличение засоления почвы индуцирует существенные функциональные изменения в тканях растения. Эти изменения обеспечивают защиту растениям от повышенной концентрации NaCl. В большинстве работ, посвященных влиянию повышенных концентраций соли на метаболизм растений,изучались относительно высокие концентрации соли в среде (от 50 мМ и выше). Однако было показано, что и более низкие концентрации натрия (25 мМ) могут влиять на физиологическое состояние клеток корня растений. Высокая концентрация NaCl оказывает двоякий эффект – во-первых, растение реагирует на повышенную концентрацию ионов натрия и хлора, а во-вторых, значительное увеличение концентрации соли вызывает осмотический шок. Задача настоящей работы заключалась в том, чтобы разделить эти два эффекта и исследовать сенсорные механизмы растения, отвечающие непосредственно за рецепцию ионов натрия. Для идентификации молекулярных систем регуляции, участвующих в восприятии и передаче сигнала засоления клетками корня *Arabidopsis thaliana*, мы исследовали реакцию на «сигнальные» концентрации NaCl, то есть, на такие концентрации, которые, не являясь токсичными, вызывают физиологический ответ растения. Используя протеомный анализ (двумерный гель-электрофорез в полиакриламиде) мы исследовали изменения количества и молекулярной массы белков в клетках корней *Arabidopsis thaliana* при выращивании на 10 мМ NaCl и аналогичной концентрации KCl в течение 6 суток. Это позволило нам выявить белки, которые специфически изменяются под действием ионов натрия. Посредством масс-спектрометрического анализа был идентифицирован белок PYK10/BGLU23, который относится к β-гликозидазам и является преобладающим белком ЭПР-телец. ЭПР-тельца (ER body) представляют собой особые органеллы веретенообразной формы – производные эндоплазматического ретикулума, характерные для порядка *Brassicales*. Функции этих органелл в настоящее время окончательно не выяснены, но многие данные говорят об их участии в ответе на различные факторы стресса. Было показано, что в результате действия на корень 100 мМ NaCl ЭПР-тельца сливаются друг с другом и с вакуолью в умирающих клетках. Мы исследовали влияние различных концентраций NaCl на содержание ЭПР-телец в клетках корня *A. thaliana*, трансформированного конструкцией YFP-KDEL. Было показано, что ЭПР-тельца обнаруживаются в клетках корня *A. thaliana*, выращенного на средах, содержащих 0 мМ, 10 мМ и 100 мМ NaCl.

МИКРОБНЫЕ АССОЦИАЦИИ КСИЛЕМЫ ДЕРЕВЬЕВ ДУБА ОБЫКНОВЕННОГО (*QUERCUS ROBUR* L.) В УСЛОВИЯХ РАЗЛИЧНОГО АНТРОПОГЕННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

Microbial association of xylem *Quercus robur* L. under different anthropogenic impact

Глинская Е.В., Скрипко К.А., Решетникова М.К.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского», Саратов, Россия
elenavg-2007@yandex.ru

Дубравы на территории Приволжской возвышенности в настоящее время продолжают находиться в состоянии депрессии. Патология дуба приводит к деградации древостоев, нарушению структуры всех растительных компонентов, биоразнообразия, экологического режима и водоохранных свойств насаждений. В результате сукцессионных процессов происходит смена дуба менее ценными древесными породами, а часто и полное разрушение лесных экосистем. Усыхание дубовых насаждений вызвано комплексом абиотических и биотических неблагоприятных факторов, не до конца еще изученных и раскрытых.

Целью работы являлось изучение микробных ассоциаций ксилемы деревьев дуба обыкновенного, произрастающих на территории Саратовской области в условиях различного антропогенного воздействия.

Объектом микробиологических исследований служили керны дуба обыкновенного. Отбор проб осуществляли на территории лесопарка «Кумысная поляна» (г. Саратов), острова Чардым (Саратовская область, Воскресенский район, окрестности села Чардым), Национального парка «Хвалынский» (Саратовская область, Хвалынский район). Выбор мест отбора проб связан с различной степенью антропогенного влияния на экологические системы. Лесопарк «Кумысная поляна» окружает г. Саратов с запада и используется для загородного отдыха горожан, таким образом, испытывает рекреационную нагрузку в течение всего года. На острове Чардым расположены туристические базы отдыха и спортивно-оздоровительные лагеря, территория подвержена сезонному антропогенному воздействию. Дубравы Национального парка «Хвалынский» испытывают минимальное влияние хозяйственной деятельности человека на уровне фоновой антропогенной нагрузки.

Микробиологические исследования проводили стандартными методами. Для выделения микроорганизмов использовали ГРМ-агар (Россия, Оболенск), картофельную среду, среду Сабуро. Первоначальная идентификация выделенных микроорганизмов проводилась по фенотипическим признакам, генная идентификация - на основании секвенирования 16S рРНК («Синтол», г. Москва). С целью определения факторов фитопатогенности проводили изучение целлюлолитической активности и способности изолированных штаммов к мацерации растительных тканей.

В результате проведенных исследований из кернов *Quercus robur* было изолировано 17 видов бактерий и 7 видов грибов. Из кернов деревьев дуба, произрастающих на территории лесопарка «Кумысная поляна», было выделено 6 видов бактерий, грибная микрофлора отсутствовала; из кернов дубов, произрастающих на острове Чардым – 10 видов бактерий и 1 вид грибов, из кернов дубов, произрастающих на территории Национального парка «Хвалынский» – 5 видов бактерий и 6 видов грибов.

Бактериальные ассоциации были представлены видами родов *Bacillus* (6 видов), *Listeria* (2 вида), *Proteus*, *Sphingomonas*, *Pantoea*, *Curtobacterium*, *Cellulomonas*, *Erwinia*, *Esherichia*, *Staphylococcus* и *Planococcus* (по 1 виду). Численность микроорганизмов в ксилеме деревьев дуба обыкновенного варьировала от 10^2 до 10^4 КОЕ в 1 г. Максимальные численные показатели были характерны для *Bacillus licheniformis*, *Erwinia amylovora*, *Listeria innocua*, *Pantoea dispersa*. Выделенные микроорганизмы являются широко распространенными в окружающей среде сапрофитами, обитающими в почвенных и водных экосистемах. Проникновение их в сосудистую систему растений осуществляется, вероятно, через повреждения вегетативных органов растения. Наиболее сходен видовой состав микроорганизмов ксилемы деревьев, произрастающих на территории Национального парка «Хвалынский» и острова Чардым, максимально различаются микробные ассоциации ксилемы деревьев, произрастающих на территории лесопарка «Кумысная поляна» и Национального парка «Хвалынский».

Изучение факторов фитопатогенности показало, что более 70% изолированнных штаммов проявляют целлюлолитическую активность и способны к мацерации растительных тканей. На основании полученных данных можно заключить, что эти микроорганизмы могут являться причиной развития сосудистых инфекций растений и вносить значительный вклад в процесс усыхания дубрав на территории Саратовской области.

В результате проведенных исследований не выявлено значительных различий видового состава и численности микроорганизмов в ксилеме деревьев дубов, произрастающих на территориях с различным уровнем антропогенного воздействия.

ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРОВ ПОЛЯРНОГО ТРАНСПОРТА АУКСИНА НА ОРГАНИЗАЦИЮ АКТИНОВЫХ МИКРОФИЛАМЕНТОВ В ХОДЕ ГРАВИТРОПИЧЕСКОГО ОТВЕТА КОРНЕЙ АРАБИДОПСИСА

Auxin polar transport inhibitors affect actin microfilament organization during *Arabidopsis* root gravitropic response

Гобова А.Е., Пожванов Г.А., Банкин М.П., Медведев С.С.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; ssmedvedev@mail.ru

Гравитация является одним из наиболее важных поляризованных факторов внешней среды в жизни растений. Каждое растение способно «оценивать» свое положение относительно вектора силы тяжести и при необходимости корректировать его за счет поляризованного роста. Направленный рост органов растения относительно вектора силы тяжести называют гравитропизмом. Ключевую роль в определении направления роста растения играет градиент концентрации ауксина.

В качестве объекта исследования использовали 7-суточные проростки *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., экотип Columbia 0, трансформированные конструкцией *GFP-fABD2*. Актиновый цитоскелет визуализировали при помощи конфокальной микроскопии; угловое распределение микрофиламентов получали путем обработки изображений в программе Microfilament Analyzer, микрофиламенты классифицировали как аксиальные (угол –30 – +30˚ к оси корня), наклонные (30 – 60˚) и поперечные (60 – 90˚).

В растениях, трансформированных конструкцией *GFP-fABD2*, актиновый цитоскелет был выявлен во всех исследованных типах клеток в кончике корня от апикальной меристемы до зоны растяжения. Обработка вертикально (*v*) и горизонтально (*g*) ориентированных корней раствором этефона (продуцент этилена), приводила к укорачиванию и фрагментации актиновых микрофиламентов. Антагонист этилена – салициловая кислота вызывала появление наклонных и поперечно ориентированных микрофиламентов (*v*, *g*). Обработка хелатором Ca^{2+} (EGTA) вызывала избыточную полимеризацию актина (*v, g*), сопровождавшуюся появлением всех вариантов ориентации актиновых микрофиламентов: аксиальных, продольных и поперечных. В корнях (v, g), обработанных аминоэтоксивинилглицином (AVG, ингибитор синтеза этилена), увеличивалась доля микрофиламентов, ориентированных наклонно и поперечно.

По результатам работы сделаны следующие выводы: регуляторы полярного транспорта ауксина изменяют характер перестройки актинового цитоскелета, индуцированной гравистимуляцией. Этефон вызывал фрагментацию актинового цитосклета и уменьшение яркости флуоресценции (по сравнению с контролем). Салицилат ускорял реорганизацию актинового цитоскелета и угнетал гравитропическую реакцию в целом, вероятно, за счет подавления синтеза этилена. Ca^{2+}-хелатор EGTA нарушал нормальное для вертикального роста (*v*) угловое распределение микрофиламентов с доминированием аксиальной и наклонной ориентации. AVG индуцировал появление всех типов ориентации актиновых филаментов (с преобладанием наклонно ориентированных актиновых микрофиламентов).

Работа выполнена за счет средств НИР СПбГУ 1.38.233.2014 и РФФИ 14-04-01624, 15-04-04075 с использованием оборудования Ресурсного центра «Развитие молекулярных и клеточных технологий» СПбГУ.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭВОЛЮЦИЯ ФЕРМЕНТОВ ЛИПОКСИГЕНАЗНОГО КАСКАДА

Molecular evolution of enzymes involved in lipoxygenase cascade

Гоголев Ю.В., Топоркова Я.Ю., Осипова Е.В., Гречкин А.Н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук, Казань, Республика Татарстан, Россия
gogolev.yuri@gmail.com

Липоксигеназный каскад является источником физиологически активных соединений – оксилипинов. У высших растений оксилипины отвечают за регуляцию роста, морфогенез, участвуют в формировании системной устойчивости к экстремальным факторам и патогенам. Оксилипины и ферменты их биосинтеза обнаружены у бактерий, бурых и красных водорослей, кораллов, хордовых и пластинчатых. Ключевыми ферментами липоксигеназного каскада являются липоксигеназы и цитохромы семейства CYP74 суперсемейства P450: алленоксидсинтазы (АОС), гидропероксидлиазы (ГПЛ), дивинилэфирсинтазы (ДЭС). Разнообразие генов семейства CYP74 в геномах различных организмов предполагает и другие типы катализа. Ферментативный катализ липоксигеназ и ферментов CYP74 остается недостаточно охарактеризованным. Несмотря на большое разнообразие оксилипинов, в значительной степени изученными можно считать биосинтез и функции жасмоновой кислоты и ее производных.

Особый интерес представляет молекулярная эволюция ферментов липоксигеназного каскада. Широкое распространение липоксигеназ позволяет предположить их возникновение до цитохромов. Однако отсутствие функциональной значимости гидроперекисей жирных кислот ставит вопрос о возможном включении липоксигеназ в уже существующий метаболический процесс, в котором поступление данного субстрата происходило в результате неферментативного окисления ненасыщенных жирных кислот.

Филогения и систематика ферментов CYP74 до сих пор остается на стадии разработки. Использование стандартных алгоритмов классификации приводит к объединению в систематические группы функционально не связанных ферментов. Некоторые типичные представители CYP74 по биохимическим характеристикам не удовлетворяют принятым критериям принадлежности к семейству, в связи с чем их предложено включить в одноименный «клан». При этом данный клан рассматривается как продукт поздней эволюции растений, связанной с их выходом на сушу. Однако открытия липоксигеназного каскада у животных, бурых водорослей и прокариот, свидетельствуют о древнем происхождении этого ферментативного пути и его фундаментальном физиологическом значении на ранних этапах развития жизни.

Выяснение эволюционных процессов, обусловливающих возникновение сложных реакционных комплексов, является одним из фундаментальных вопросов эволюции живых систем. С точки зрения молекулярной филогении ферменты липоксигеназного каскада представляют удобную модель, которая позволяет проследить коэволюцию двух типов ферментов, осуществляющих цепь сопряженных реакций. Детерминированность липоксигеназного каскада в небольшом количестве направлений биосинтеза оксилипинов при одновременной пластичности ферментов, способных к конверсии при минорных модификациях первичной структуры, дает возможность экспериментальной реконструкции эволюционных процессов.

На основании экспериментальных данных и результатов компьютерного моделирования нами определены факторы, влияющие на специфичность окисления субстратов при участии липоксигеназ растений. Выявлены консервативные участки полипептидных цепей данных ферментов и предложены варианты мутаций, с высокой вероятностью влияющие на их каталитические свойства. Проведен сравнительный анализ первичных и третичных структур монооксигеназ P450 и представителей семейства CYP74; выявлены гипотетические детерминанты катализа – сайты, находящиеся в каталитически важных доменах, имеющих консервативные последовательности у ферментов с разным типом катализа. Сделаны теоретические предсказания эффектов некоторых модификаций первичной структуры алленоксидсинтаз, гидропероксидлиаз и дивинилэфирсинтаз, на основании которых проведено экспериментальное изменение механизмов каталитического действия данных ферментов семейства CYP74. Построена модель молекулярной эволюции ферментов CYP74 от единого гипотетического предка, существовавшего у примитивных аэробов.

УЧАСТИЕ ГРИБОВ РОДА *TRICHODERMA* В РЕГУЛЯЦИИ РОСТОВЫХ ПРОЦЕССОВ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ СТРЕССА

Trichoderma participates in the regulation of growth processes of plants under stress

Голованова Т.И., Валиулина А.Ф.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Сибирский федеральный университет» (СФУ), Красноярск, Россия; tigolovanova@mail.ru

Одним из элементов, оказывающих существенное влияние на растительный организм, является цинк. Он обладает слабой фитотоксичностью, которая обнаруживается только при существенном увеличении его содержания в почве. Однако даже относительно слабо фитотоксичный цинк может приводить к хлорозу и образованию многочисленных окрашенных в коричневый цвет боковых корней. Повышенные концентрации данного металла вызывает у растений как латентное, так и острое отравление. В силу того, что возрастание содержания тяжелых металлов в окружающей среде становится серьезной экологической проблемой современности, в связи с этим особую актуальность приобретает вопрос о выяснении влияния грибов-антагонистов на жизнедеятельность растительных организмов в условиях стресса. Микроорганизмы антагонисты фитопатогенов могут оказывать существенное влияние на выживание растений в стрессовых условиях. Они вызывают в зависимых растениях ряд биохимических и морфологических изменений, являющихся частью защитной стратегии растения. *Trichoderma* – это биоконтролирующий агент. Отмечено, что данный микромицет является активным продуцентом фермента целлюлазы и способен к глубокой деструкции как клеточных стенок растений, так и отдельных трудно расщепляемых растительных полисахаридов. Благодаря всем этим качествам грибы рода *Trichoderma* широко используются в сельском хозяйстве для защиты растений. Так как растение находится под влиянием стрессовых факторов, то ответные реакции растений могут быть использованы в качестве биомаркеров стресса. Исходя из этого существует несколько методов оценки реакции растения на действие того или иного неблагоприятного фактора. Одним из таких методов, в качестве потенциальных биомаркеров, является изменение концентрации хлорофилла у растений, находящихся в стрессовых условиях. Анализ содержания фотосинтетических пигментов и их количественного соотношения является надежным методом оценки загрязнения окружающей среды. Второй метод – измерение флуоресценции хлорофилла с помощью флуориметра. У растений, подвергшихся воздействию тяжелых металлов, показано уменьшение содержания хлорофилла и интенсивности флуоресценции. Снижение содержания пигментов, вызванное повышением концентрации металлов, показывают, что измерения флуоресценции хлорофилла могут быть использованы в качестве биомаркеров содержания хлорофилла для мониторинга изменений в загрязненных экосистемах. Цель данной работы – оценить роль *Trichoderma* на содержание фотосинтетических пигментов, их соотношение; параметры квантового выхода фотосинтеза и скорость электронного транспорта у *Solanum lycopersicum*.

Содержание хлорофилла определяли спектрофотометрическим на приборе Specol 1300. Функциональную активность фотосинтетического аппарата растений оценивали по показателям индукции флуоресценции хлорофилла PAM-флуориметром (Heinz Walz GmbH, Германия).

Влияние тяжелых металлов и степень физиологического стресса оценивалось не только по изменению содержания отдельных пигментов растения, но и по их соотношению, так как отношение содержания зеленых и желтых пигментов (Chl $a+b$)/car является важнейшим показателем состояния энергетических процессов, протекающих в хлоропластах. Исследования показали, что соотношение (Chl $a+b$)/car в листьях растений находилось в пределах от 5,6 до 5,07 (растения, семена которых необработанные *Trichoderma*) и от 4,9 до 5,1 (семена обработанные грибами штамма МГ-97). Такое отношение фотосинтетических пигментов характерно для хорошо функционирующих здоровых растений. Однако у растений, выращенных в условиях, характеризующихся повышенным содержанием такого стрессового фактора как цинк, было отмечено резкое снижение данного показателя. Цинк влиял на параметры квантового выхода фотосинтеза и скорость электронного транспорта, однако степень его влияния зависела от времени действия и концентрации его ионов в среде. Внесение *T. asperellum* снимала ингибирующее действие цинка.

На основании проведенных исследований сделано заключение, что грибы рода *Trichoderma* оказывали существенное влияние на ростовые процессы *Solanum lycopersicum*, под их действие происходило накопление биомассы растения, зеленых и желтых пигментов, оказывали влияние на биофизические параметры исследуемого растения. Под их влиянием наблюдалось увеличение квантового выхода и скорости электронного транспорта. Однако на взаимоотношение грибов рода *Trichoderma* и *Solanum lycopersicum* большое влияние оказывал такой стрессовый фактор как цинк, причем степень его воздействия зависела от его концентрации. В больших концентрациях цинк снижал все изучаемые параметры, на 60-е сутки происходила гибель организма в среде, содержащей Zn в концентрации $5 \cdot 10^{-5}$, тем не менее, микромицеты проявляли защитную функцию, снижая действие стрессора.

СЕЛЕН-ЗАВИСИМЫЕ РЕАКЦИИ ПРОРОСТКОВ *LICHNIS CHALCEDONICA* L. НА СИНЕМ СВЕТУ

Selenium-dependent reactions of *Lichnis chalcedonica* L. seedlings under blue light

Головацкая И.Ф., Видершпан А.Н., Бойко Е.В.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», Томск, Россия
golovatskaya.irina@mail.ru

Селен как эссенциальный микроэлемент человека и животных необходим для нормальной их жизнедеятельности. Известны его антиоксидантные и каталитические функции в организме. Селен входит в состав ряда ферментов (например, глютатионпероксидаз, тиоредоксинредуктаз и других) и принимает участие в поддержании перекисного гомеостаза, предупреждая развитие большого числа заболеваний человека. Исследования последних лет показали, что селен является микроэлементом и для растений. Селен участвует в антиоксидантной защите растений в условиях стресса. Он действует на показатели водообмена растений в условиях почвенной засухи и гипотермии. Показано влияние селена на рост и развитие растений. Поскольку рост и развитие растений находятся под постоянным контролем внешних факторов, и, прежде всего света, его спектрального состава, следует понять, как меняется в этих условиях действие селена на растение. Анализ отечественной и зарубежной литературы свидетельствует об единичных данных по влиянию селективного света на рост и развитие растений в зависимости от уровня селена в среде (Головацкая и др., 2013). В связи с этим целью нашей работы было исследование влияния селенита натрия на морфогенез и содержание фотосинтетических пигментов в проростках *Lychnis chalcedonica* L., культивируемых на синем свету.

Объектом исследования служил лихнис хальцедонский (*Lychnis chalcedonica* L.) из семейства *Caryophyllaceae*, который является ценным лекарственным растением. По результатам проведенного нами биохимического анализа в верхней части цветущего побега установили присутствие нескольких физиологически активных веществ (ФАВ). Содержание экдистероидов (по содержанию экдистерона) флавоноидов и тритерпеновых гликозидов (сапонинов) составило соответственно 0,34±0,03, 0,87±0,06 и 1,27±0,16% от сухой массы. Содержание ФАВ служит основой для введения этого вида в культуру *in vitro*.

При культивировании стерильных семян *L. chalcedonica* L. на жидкой 50%-ной питательной безгормональной среде Мурасиге-Скуга на синем свету были получены 7-дневные проростки (контроль). В опытных вариантах в питательную среду после ее автоклавирования добавляли селенит натрия («Sigma», США) в диапазоне концентраций от 0,01 до 100 мкМ. Фиксированные проростки фотографировали с помощью видеокамеры и определяли размеры их органов в компьютерной программе Moticam 2300 (Испания). Содержание фотосинтетических пигментов определяли спектрофотометрически при длине волны 470.0, 648.6 и 662.4 нм с использованием спектрофотометра «Genesys 10S UV-VIS» (США) и рассчитывали по Lichtenthaler (1987).

В результате исследования было установлено влияние селенита натрия на морфогенез 7–дневных проростков *L. chalcedonica* L., культивированных на синем свету. Рост корня тормозился при действии 1–100 мкМ селенита натрия, но сохранялся на уровне контроля при действии низких концентраций селена. Ингибирующий эффект селенит-иона на рост гипокотиля проявлялся при более высоких концентрациях, чем на рост корня. Размеры гипокотиля не изменялись при действии селенита натрия в диапазоне концентраций 0,01–1 мкМ. Такая реакция гипокотилей, вероятно, связана с буферной ролью корневой системы. Торможение растяжения корня происходило с большей скоростью, чем гипокотиля, поскольку отношение длины гипокотиля к длине корня увеличивалось с увеличением концентрации.

Наиболее чувствительным органом к действию селенита натрия оказалась семядоля, поскольку уменьшение ее размеров отмечалось уже при действии низких концентраций микроэлемента. Уровень фотосинтетических пигментов в единице сырой массы семядолей не изменялся при действии селенита натрия в диапазоне концентраций 0,01–1 мкМ, но повышался на 27–35% при действии 100 мкМ. Однако при расчете содержания хлорофилла *a,* хлорофилла *b* и суммы каротиноидов на одну семядолю установили другую закономерность. Селенит натрия в концентрации 0,01 мкМ не изменял уровень пигментов, свойственный семядоли контрольного варианта, тогда как при действии селенита натрия в концентрации 1–100 мкМ происходило уменьшение на 30% всех групп фотосинтетических пигментов. Из подобного анализа данных следует, что при расчете биохимических показателей, аналогично морфологическим, всегда следует рассчитывать его содержание или активность на орган, в котором измеряется показатель.

На примере клеточной культуры *Saussurea orgaadayi* нами показано, что более высокие концентрации (10 мкм) селенита натрия снижали интенсивность свободнорадикальных процессов, проявляя антиоксидантные свойства. Следует предположить, что и в растениях лихниса в зависимости от дозы возможно влияние селенита натрия на окислительные процессы. Таким образом, показано, что действие селенита натрия на проростки *L. chalcedonica* выражалось в изменении ростовых корреляций и биосинтетических процессов в проростках в зависимости от дозы микроэлемента на синем свету. Установлена органоспецифичность селен-зависимых реакций в проростках.

ВЛИЯНИЕ ИОНОВ МЕДИ НА РОСТОВЫЕ И СИНТЕТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В ПРОРОСТКАХ *LYCHNIS CHALCEDONICA* L. НА КРАСНОМ СВЕТУ

The effect of copper ions on the growth and synthetic processes in the seedlings of *Lychnis chalcedonica* L. under red light

Головацкая И.Ф., Хиониди Э.Г., Никиткин В.А., Бойко Е.В.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», Томск, Россия
golovatskaya.irina@mail.ru

Среди важных микроэлементов, определяющих рост и развитие растений, выделяют медь. Медь присутствует в растении преимущественно в комплексных соединениях с низкомолекулярными органическими веществами и протеинами. Она способна переходить из одновалентной формы в двухвалентную и обратно, тем самым определяя направление окислительно-восстановительных процессов. Она играет существенную роль в фотосинтезе, перераспределении углеводов, дыхании, фиксации и восстановлении азота, метаболизме протеинов и компонентов клеточных стенок. Медь контролирует баланс влаги в растении, влияя на проницаемость сосудов ксилемы для воды. Она оказывает влияние на механизмы, определяющие устойчивость к заболеваниям. Несмотря на общую толерантность растительных видов к меди, этот элемент все же рассматривается как сильно токсичный. Избыток доступной для растений меди вызывает ингибирование различных процессов в метаболизме растений и снижает поступление железа и марганца. Среди главных симптомов отравления медью выделяют медь-индуцированный хлороз и дефекты развития корневой системы. Несмотря на имеющуюся большую информацию о физиологической роли меди, отсутствуют данные об изменении чувствительности растений к меди в разных условиях освещения. В связи с этим целью наших исследований было изучение влияния ионов меди на морфогенез и содержание фотосинтетических пигментов лекарственного растения *Lychnis chalcedonica* L. на красном свету.

Объектом исследований служили проростки лихниса хальцедонского – ценного лекарственного растения семейства *Caryophyllaceae*, содержащего фитоэкдистероиды, сапонины, фенольные соединения и другие биологически активные вещества. 7-дневные проростки *L. chalcedonica* были получены при культивировании стерильных семян в асептических условиях на питательной среде Мурасиге-Скуга (контроль) и МС с добавлением двойной и тройной доз $CuSO_4x5H_2O$ (опыт) на красном свету. Ростовые параметры определяли с привлечением программы Moticam 2300 (Испания). Содержание фотосинтетических пигментов определяли спектрофотометрически.

В ходе эксперимента показали, что увеличение концентрации меди в питательной среде приводило к увеличению растяжения осевых органов. При этом темпы роста гипокотиля и корня изменялись неоднозначно: темпы роста корня увеличивались в большей степени (60 и 85%), чем гипокотиля (26 и 28%, соответственно для 2-х и 3-х доз меди). В результате уменьшалось соотношение длины гипокотиля к корню. Одновременно с этим происходило увеличение площади поверхности семядолей, соответственно на 28 и 40%. С увеличением концентрации меди показано преимущественное увеличение сырой массы проростков в сравнении с изменением их сухой массы. Последний факт свидетельствовал об увеличении содержания воды в проростках, что могло объяснить увеличивающееся растяжение органов. Наибольшая реакция корней на медь по сравнению с другими органами могла быть связана с меньшей подвижностью микроэлемента в проростках относительно других элементов. Считают, что большая доля меди остается в тканях корней. Последнее обстоятельство может играть негативную роль в развитии корневой системы и формировании симптомов отравления при высокой концентрации меди в среде.

Определение содержания фотосинтетических пигментов показало, что при расчете на единицу сырой массы под действием меди наметилась недостоверная тенденция уменьшения средних величин уровня пигментов. В тоже время при расчете на одну семядолю обнаружено достоверное увеличение уровня хлорофиллов *a* и *b* и каротиноидов. Сопоставление данных по росту и накоплению пигментов указывает на то, что уменьшение уровня последних в единице массы семядоли могло быть связано с увеличением обводненности клеток в процессе их растяжения, тогда как достоверное повышение уровня пигментов в расчете на одну семядолю указывает на активный их синтез под влиянием меди.

Полученные результаты свидетельствовали о том, что исследуемый нами диапазон концентраций меди оказывал положительное действие на ростовые и синтетические процессы проростков *L. chalcedonica* на красном свету. Отсутствие симптомов отравления подтверждают то, что выбранные концентрации относятся к физиологически нормальным концентрациям меди для *L. chalcedonica* на красном свету на фоне питательной среды, сбалансированной по макро- и микроэлементам. При этом могли играть роль и меньшая чувствительность данного вида к микроэлементу, и антагонистические взаимодействия меди с другими химическими элементами, составляющими питательную среду.

РЕГУЛЯЦИЯ КАЛЛУСОГЕНЕЗА У ГОРМОНАЛЬНОГО МУТАНТА *det2 ARABIDOPSIS THALIANA* L.

Regulation of callusogenesis in hormonal mutant *det2* of *Arabidopsis thaliana* L.

Головацкая И.Ф., Чигинцова А.Е., Бойко Е.В.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», Томск, Россия
golovatskaya.irina@mail.ru

Согласованность всех процессов жизнедеятельности растительного организма между собой по скорости, времени и месту протекания обусловлена функционированием внутриклеточных и межклеточных систем регуляции. Среди межклеточных систем выделяют гормональную систему регуляции. Показана важная роль брассиностероидов в морфогенезе растений. Нарушение биосинтеза брассиностероидов у этиолированных проростков мутантов *Arabidopsis thaliana* способствует формированию карликового фенотипа, который компенсируется добавлением только этой группы фитогормонов. Возможно, такой эффект брассиностероидов связан с регуляцией ими роста и уровня других эндогенных гормонов растения.

Данные, полученные на интактных растениях, не позволяют установить в регуляции каких реакций клеточного уровня могут функционировать сигнальные пути тех или иных гормонов. Для решения подобных задач целесообразно использование более простых биологических моделей, например, культивируемые клетки *in vitro*. В настоящее время не изучена роль эндогенных брассиностероидов на каллусогенез и рост изолированных клеток. В связи с этим целью нашей работы было изучение регуляции каллусогенеза гормонального мутанта *det2 Arabidopsis thaliana* (Heynh.) экотипа Columbia.

Исследования проводили с использованием растений *A. thaliana* дикого типа Col и его гормонального мутанта *det2. DET2* кодирует стероид-5α-редуктазу, катализирующую синтез 3-дегидро-кампестанола из 3-дегидро-D^{4-5}-кампестерола, и тем самым контролирует содержание брассинолида и других эндогенных БС. Мутанты *det2* накапливают только 8–15% уровня кампестанола и меньше 10% других брассиностероидов по сравнению с растениями дикого типа. При культивировании стерильных семян *A. thaliana* на питательной безгормональной среде Мурасиге-Скуга (MS) были получены 21–30-дневные растения, органы которых использованы в качестве эксплантов для стимуляции каллусогенеза в темноте и на свету. Каллусогенез индуцировали и поддерживали на питательной среде MS с добавлением гормонов кинетина и 2,4Д в условиях *in vitro*. Фиксированный каллус микроскопировали, визуализацию и определение размеров клеток осуществили с помощью видеокамеры и компьютерной программы Moticam 2300 (Испания). Цитоморфологические исследования каллуса включали оценку размеров и формы клеток, частоту их встречаемости.

В результате проведенных исследований было показано, что на свету у обеих линий процесс каллусогенеза начинался в течение нескольких суток, тогда как в темноте этот процесс проходил более медленно. При пассажировании каллуса на свету наблюдали кратковременный рост с последующей его гибелью без пересадки через 15 суток, в тоже время в темноте каллус рос интенсивно длительное время. Цитологические исследования показали, что в каллусе встречались округлые, эллипсоидные и вытянутые клетки. Внутри каждого класса можно было выделить подклассы мелких меристематических клеток и крупных паренхимных клеток. Присутствие мелких клеток может свидетельствовать об ускорении клеточного деления в культуре, а крупных клеток – активации клеточного растяжения в каллусе.

При анализе формы клеток установили, что с увеличением возраста исходных растений Col листовой эксплант давал каллус с уменьшенной долей (с 22 до 6,5%) округлых мелких меристематических клеток и увеличенной долей (с 20 до 27%) вытянутых мелких делящихся клеток и овальных и вытянутых крупных паренхимных клеток (с 24 до 36% от общего числа клеток каллуса). При оценке размеров клеток отметили, что с увеличением возраста экспланта увеличивался объем всех типов клеток.

Сравнение размеров клеток каллуса разных линий *A. thaliana* показало уменьшение размеров клеток у мутанта по сравнению с таковыми у дикой линии. Меристематические и паренхимные клетки *det2* по объему были в 2 раза меньше, чем у Col, что, вероятно, обусловлено меньшим уровнем эндогенных брассиностероидов. При этом дефицит гормона в клетках каллуса отражался и на частоте встречаемости разных типов клеток. У мутанта отмечена меньшая доля меристематических клеток и большая доля паренхимных вытянутых клеток по сравнению с диким типом.

Таким образом, показано влияние условий освещения, возраста экспланта и уровня эндогенного гормонов брассиностероидов на процесс каллусогенеза *A. thaliana* и изменчивость цитоморфологических характеристик каллуса, а также участие брассиностероидов в регуляции роста клеток каллуса.

СТРЕСС-ФИЗИОЛОГИЯ ПОЙКИЛОГИДРИЧЕСКИХ ФОТОТРОФОВ

Stress-physiology of poikilohydric phototrophs

Головко Т.К., Захожий И.Г., Далькэ И.В., Малышев Р.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Коми научного центра Российской академии наук, Сыктывкар, Россия; golovko@ib.komisc.ru

Пойкилогидрические фототрофы – особая группа фотосинтезирующих организмов, неспособных регулировать водный режим. Наличие воды в окружающей среде определяет активность процессов жизнедеятельности данных организмов. К ним относятся мхи и лишайники, отличающиеся существенно как в филогенетическом, так и в биологическом отношении. Лишайники – устойчивая, саморегулирующаяся ассоциация гриба и водорослей, один из наиболее древних и довольно сложных объектов живой природы. Присутствие фотосинтезирующего компонента (зеленые водоросли и/или цианопрокариоты) превращает грибной гетеротрофный организм в автотрофную ассоциацию. Фотобионт снабжает гриб органическим углеродом и азотом (в случае цианобактерий), микобионт создает благоприятную среду для функционирования фотобионта, защищает от внешних воздействий, снабжает водоросль водой, некоторыми минеральными элементами. Мхи представляют собой особую линию эволюции высших растений, характеризуются сравнительно простой внутренней организацией. При наличии сложно устроенных органов размножения, у них по существу отсутствуют специализированные вегетативные органы. Функции фотосинтеза, водоснабжения, минерального питания выполняет развивающийся из споры гаметофит.

Нами проведено комплексное изучение функциональной активности и устойчивости представителей лихенобиоты и бриофитов бореальной зоны в природных и экспериментальных условиях. С использованием современных физико-химических методов выявлено влияние основных абиотических факторов (свет, температура и вода) на фотосинтез и сопряженные процессы. Установлено, что хорошо гидратированные макролишайники с зеленой водорослью (содержание воды 1,5-2,5 г/г сухой массы) способны ассимилировать CO_2 со скоростью 4-6 мкмоль/($м^2$с). В лабораторных опытах потеря 40-50% воды оказывала слабый эффект на максимальный квантовый выход ФСII (F_v/F_m) и нетто-поглощение CO_2. Полную депрессию функциональной активности отмечали у воздушно-сухих талломов с содержанием воды 0,1-0,3 г/г. Погружение талломов в воду на 15 мин приводило к восстановлению светопропускания верхнего корового слоя и фотосинтеза. В засушливый период вегетации поглощение CO_2 талломами эпифитного вида *Lobaria pulmonaria* отмечали лишь в ранние утренние часы после увлажнения ночью конденсированной атмосферной влагой. Лишайники, обитающие среди мхов на почве или валеже обезвоживались в меньшей степени по сравнению с эпифитными (на стволах деревьев) и в дневные часы сохраняли положительный газообмен. В зависимости от сезона года фазовый переход вода-лед в талломах осуществлялся при температуре -8...-10°С. Судя по спектрам низкотемпературной флуоресценции, зимой пигмент-белковые комплексы оставались в агрегированном функционально активном состоянии. У талломов, перемещенных зимой в комнатные условия, через 3-5 мин акклимации регистрировали величину F_v/F_m = 0,6. Спустя 1 ч поглощение CO_2 достигало 1,5-2 мкмоль/($м^2$с), полное восстановление фотосинтеза наблюдали на следующие сутки. Сезонные и суточных изменения уровня низкомолекулярных дегидринов в талломах *L. pulmonaria* отражали их вовлечение в ответ на дегидратацию.

Оводненность побегов листостебельных мхов сильно варьировала в зависимости от вида и условий обитания. У представителей рода *Sphagnum*, предпочитающих заболоченные участки, достигала 10 г/г, у *Climacium dendroides* и *Polytrichum commune* составляла в среднем 3-4 г/г. В лабораторных условиях наиболее интенсивно теряли влагу сфагнумы, при снижении содержания воды на 70-80% скорость нетто-ассимиляции падала на порядок. В теплое время года при сухой погоде наблюдали значительную потерю влаги у мхов, обрастающих стволы деревьев. Это приводило к депрессии процессов жизнедеятельности, и в первую очередь, фотосинтеза. В полуденное время, при температуре воздуха 28-30°С, у листостебельного мха *Rhytidiadelphus triquetrus* величина F_v/F_m не превышала 0,02. Ночью за счет поглощения влаги из атмосферы содержание воды в побегах повышалось от 0,2 до 0,4 г/г, и в ранние утренние часы регистрировали значения Fv/Fm около 0.39. После кратковременной адаптации в комнатных условиях величина F_v/F_m у мхов, собранных в марте при отрицательной среднесуточной температуре, составляла 0,6-0,75 отн. ед. Температура замерзания воды в побегах равнялась около -8°С, что сопоставимо с данными, полученными для лишайников.

Итак, установлены закономерности изменения показателей, характеризующих процессы усвоения света и ассимиляции углерода, при дегидратации пойкилогидрических фототрофных организмов. Высокий уровень конститутивной устойчивости и способность «избегания» неблагоприятных воздействий среды путем быстрого изменения уровня метаболической активности ставит под сомнение правомочность использования понятия «стресс» в его классическом значении по отношению к этим организмам.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 12-04-00554.

ДЕЙСТВИЕ ГИПОТЕРМИИ НА АНТИОКСИДАНТНУЮ СИСТЕМУ В ТКАНЯХ РАЗВИВАЮЩЕЙСЯ ЗАВЯЗИ ЯБЛОНИ

Effects of hypothermia on the antioxidant system in the tessue of developing apple ovary

Голышкина Л.В., Голышкин Л.В., Галашева А.М., Красова Н.Г

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур, Орел, Россия; lvgolyshkina@mail.ru

В последнее время возник большой научный интерес к периоду цветения, что обусловлен экономическими причинами, поскольку получение урожая у большинства сельскохозяйственных культур тесно связано с этим периодом. Неблагоприятные погодно-климатические условия вегетационного периода причиняют большой вред плодовым культурам, снижают их продуктивность. Особенно наносят вред садам периодически повторяющиеся весенние заморозки во время цветения. В работах последних лет выявлена реакция сортов яблони селекции ВНИИСПК на воздействие отрицательной температуры в естественных и лабораторных условиях при промораживании бутонов и цветков (Красова и др., 2011; Голышкина и др., 2012). В научной литературе отмечается недостаток информации по изучению физиолого-биохимических процессов и механизмов, происходящих в плодовых растениях при адаптации к стрессу в женской генеративной сфере.

В экспериментах использовали 5 сортов яблони из коллекции ВНИИСПК, различающихся плоидностью (Антоновка обыкновенная, Имрус, Синап орловский, Рождественское – диплоидные зимние сорта, Юбиляр – триплоидный летний сорт), устойчивые к парше (Имрус, Рождественское, Юбиляр) в течение весенней вегетации (май). Применили стандартные методики: активность пероксидазы определяли колориметрическим методом; активность каталазы – по количеству выделяющегося кислорода при разложении H_2O_2, активность супероксиддисмутазы (СОД) с использованием фотореактора спектрофотометрическим методом. Содержание свободного пролина, малонового диальдегида (МДА) оценивали спектрофотометрическим методом. Проведены модельные опыты с использованием климокамеры – воздействие отрицательной температуры -3,5°С в течение 1,5 ч.

Исследование проведено в динамике в завязях и плодах по 5 фазам от бутонов со слабо выдвинутыми лепестками до развивающегося плода весом до трех грамм.

Выполненные модельные опыты по действию отрицательной температуры во время цветения показали, что сорта различаются по активности ферментов (СОД, каталаза и общая пероксидаза), содержанию свободного пролина, малонового диальдегида. Активность пероксидазы при действии -3,5°С (1,5 ч) во время цветения у изучаемых сортов проявилась разнонаправлено: повышением активности в фазе выдвинутых бутонов у сортов Антоновка обыкновенная, Синап орловский, Рождественское, Юбиляр, без изменения в активности у сорта Имрус; в фазе раскрытых цветков после оплодотворения понижением активности фермента у сортов Синап орловский, Рождественское и резким его повышением в 2 раза у сорта Юбиляр. Под влиянием отрицательной температуры активность каталазы в завязях у исследованных сортов также изменялась. При этом активность фермента у всех сортов в развивающемся зародыше в 4-6 раз выше, чем в бутонах. В бутонах активность каталазы возрастала при стрессе у сорта Юбиляр, после оплодотворения в развивающемся плоде падала. Под действием -3,5°С (1,5 ч) показано незначительное изменение активности СОД у всех сортов. У сорта Юбиляр наблюдалось понижение активности фермента в фазе развивающегося плода. Известно, что увеличение активности СОД способствует накоплению активных форм кислорода. В данном случае отрицательный температурный режим не вызвал резких изменений в метаболизме завязи. Подобная картина проявлялась при определении содержания свободного пролина. Отмечено резкое уменьшение концентрации пролина в развивающемся плоде у всех изученных сортов. Свободный пролин может быть биохимическим фактором, стабилизирующим обмен веществ в местах своего запасания, в том числе в завязи, и повышенное содержание пролина в бутонах и завязях сразу после оплодотворения предопределено прогрессивным характером их последующего развития. Определение содержания малонового диальдегида показало, что уровень МДА незначительно колебался в сторону повышения при стрессе у сортов Антоновка обыкновенная, Имрус в фазах окрашенных бутонов и раскрытых цветков, у других оставался на уровне контроля, что показывает незначительные нарушения целостности клеток. Только сорт Юбиляр отличался значительным повышением содержания МДА на стадии окрашенных бутонов.

Таким образом, в условиях коротковременной низкой температуры у сортов яблони в развивающихся завязях изменялся метаболизм, на что указывают колебания в содержании свободного пролина, малонового диальдегида относительно контроля, а также изменения активности антиоксидантных ферментов. Активно реагирует на температурный стресс триплоидный сорт Юбиляр. В условиях наших опытов наиболее уязвимы к действию гипотермии у яблони бутоны с окрашенными лепестками и раскрытые цветки в начале плодообразования.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ СТРАТЕГИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ

Functional strategy of reproductive system of crops

Гончарова Э.А

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства им. Н.И.Вавилова», Санкт-Петербург, Россия; e.goncharova@vir.nw.ru

Репродуктивная биология растений издавна привлекает внимание многих исследователей. Однако, в большей степени, она отражает работы ботаников, эмбриологов, систематиков и др. В физиологическом аспекте изучении этой важнейшей функции всего растительного мира особо актуально в репродуктивный период развития и плодоношения растений (как итог конечной продуктивности) в изменяющихся условиях окружающей среды. Репродуктивная стратегия вида (генотипа) является главным фактором формирования и реализации адаптивных возможностей, связанных с их воспроизводством и распространением в соответствующих условиях среды. Основным базисом репродуктивной физиологии растений, на наш взгляд, являются физиолого-генетические механизмы донорно-акцепторной системы, определяющие функционально-стратегическую роль, раскрывая ее реализацию, в связи с формированием стабильной продуктивности и адаптивности в различных условиях окружающей среды. Нами экспериментально раскрыта сопряженность физиолого-биохимических адаптивных изменений водного, гормонального и энерго-биохимического статуса, обусловленная подготовкой растений к неблагоприятным условиям (активная летняя вегетация или период летнего покоя), с морфо-структурными процессами в различных органах растения - корни, листья, плодоэлементы. В эволюционном аспекте, причины этих взаимодействий, вероятно, можно объяснить особой биологической значимостью генеративных органов. Так, у культурных растений в процессе селекции человек гипертрофировал биомассу именно плодов, практически не изменив мощность фотосинтетического аппарата, что привело к напряженности функционирования донорно-акцепторной системы. В многоплановых и многолетних исследованиях (1985-2011 гг.) нами установлено, что донорно-акцепторные связи вегетативных и генеративных органов, проявляющиеся в конкурентных взаимоотношениях и аттрагирующей деятельности, являются ведущими механизмами в адаптации растений к разным экологическим стрессам (засуха, жара, засоление и др.). Следовательно, изучение и выяснение механизмов эндогенной регуляции физиологических процессов в системе плодоносящего растения имеют теоретическое и практическое значение. Используя физиолого-генетический подход, нами впервые установлены физиологические, метаболические и морфо-структурные механизмы, сотавляющие репродуктивный статус растений. Главным отличием наших экспериментов явилось многоплановое изучение основных метаболических и функционально-структурных изменений в период плодоношения растения при различных экстремальных экологических воздействиях - поглощение, транспорт, перераспределение воды и ассимилятов и других веществ между органами; их фотосинтетическая деятельность, гормональный баланс и, связанная с ними, ростовая активность в период плодоношения, а также некоторые физиолого-биохимические и анатомические изменения, приводящие к опадению генеративных органов. Проведенные эксперименты показывают, что репродуктивная система является автономно-функционирующей структурой, с собственной морфо-физиологической программой роста и развития, которая эндогенно регулирует донорно-акцепторные связи в зависимости от жизненной стратегии и условий произрастания растений. На основании многоплановых исследований разработана концепция функционирования репродуктивной системы растений и раскрыта ее функционально-стратегическая роль в формировании биологического и адаптивного потенциалов. Теоретическая и практическая значимость исследований обоснована доказательством изменения морфо-физиологического комплекса растения в годичном цикле, что обусловлено его адаптацией к смене сезонов года и связано с эколого-ценитическими условиями среды. Полученные результаты вносят вклад в углубление и расширение представлений о формировании защитно-приспособительных механизмов, обеспечивающих функциональную пластичность и эффективное потребление природных ресурсов. Экспериментально обоснован физиолого-генетический базис, как основа для управления продуктивностью с/х растений на основе полученных оригинальных данных по морфо-структурным, физиолого-генетическим и экологическим закономерностям формирования адаптивного потенциала. Разработанные экспериментальные подходы и современная методология рекомендованы и применяются для совершенствования разноплановых приемов комплексной характеристики репродуктивного статуса различных представителей ботанических видов и семейств из Генетических растительных ресурсов ВНИИ им.Н.И. Вавилова с целью прогнозирования их поведения в различных экологических и ценотических условиях, а также для выявления ценных источников и доноров устойчивости (в т.ч. продуктивности) для селекции, растениеводства и интродукции. При экспериментальной реализации изучения этой актуальной проблемы использованы современные физиолого-биохимические и анатомо-структурные методы, а также - радиоизотопные и биофизические. Анализ результатов исследований проведен с использованием корреляционного анализа.

H_2O-КАК ФИЗИОЛОГО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МАРКЕР ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ РАСТЕНИЙ

Water as physiological and genetic marker of vital activity of plants

Гончарова Э.А., Чесноков Ю.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства им. Н.И.Вавилова», Санкт-Петербург, Россия
e.goncharova@vir.nw.ru; chesnokov@vir.nw.ru.

Продовольственная безопасность России в значительной степени зависит от успехов сельскохозяйственной науки и практики. В связи с этим, изучение физиолого-генетических основ селекционно-значимых признаков растений (продуктивность, устойчивость к лимит-факторам среды и т.д.), их регуляция и прогнозирование ценны и актуальны. Несомненным и огромным вкладом в эти процессы является водный статус сельскохозяйственных растений, эффективные методы его диагностики и прогнозирования. Отмеченные закономерности изменения структуры урожая в экстремальных условиях среды генетически обусловлены и имеют большую целесообразность с точки зрения сохранения вида в разных условиях, как эволюционирующей биологической единицы. В основе осуществления выявленных изменений лежит ряд механизмов, связанных с метаболизмом растения. Имеющиеся к настоящему времени экспериментальные данные свидетельствуют о том, что основным рычагом саморегуляции организмом соотношения элементов генеративной продуктивности служит транспортный поток воды и ассимилятов от листьев к плодам. В стрессовых условиях транспортный механизм значительно ослабевает (из-за сокращения фотоассимилирующего аппарата, энергетического дефицита, анатомических изменений транспортных каналов и т.д.). Последнее вызывает резкое обострение конкуренции за потоки воды и других веществ между плодами, как на разных плодоносах, так и в пределах одного плодоноса. При этом проявляется функциональная значимость листьев, по-разному расположенных к плодам; наиболее высока стабильность физиологических процессов (водообмен, фотосинтез, гормональный баланс и т.д.) у близлежащих.

Большинство биологических признаков, представляющих практический интерес для селекции, являются количественными и, как правило, определяются аллельной структурой определенного числа генетических локусов. Смена лимитирующего фактора влечет за собой смену спектра генетических локусов, определяющих изменчивость признаков. Такие генетические локусы, названные локусами количественных признаков, QTL (Quantitative Trait Loci), и составляют главный интерес современного молекулярного подхода к селекции полигенных признаков. Впервые проведена оценка и физиолого-генетическое картирование локусов хромосом – QTL, отвечающих за проявление морфо-физиологических и основных параметров водного статуса растений и, связанных с ними количественных признаков высоты, массы и содержания сухого вещества у яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.). В результате проведенных исследований по 10 изученным признакам было выявлено 13 QTL, расположенных на 1A, 1B, 2B, 2D, 4A, 5A, 5B, 5D, 6A и 6D группах сцепления. Некоторые из идентифицированных QTL определяли проявление нескольких признаков. Выявлены корреляционные связи физиологических составляющих водного статуса с количественными признаками высоты, массы и содержания сухого вещества у растений пшеницы и установлены коэффициенты корреляции для всех изученных признаков. Показана положительная средняя корреляция между признаками «водоудерживающая способность через 3 ч (от начала эксперимента)» и «водоудерживающая способность через 24 ч» (r_{xy} = 47). Установлены корреляции между водоудерживающей способностью через 3 ч (от начала опыта) и высотой растения на стадии трубкования (r_{xy} = 29), а также между водоудерживающей способностью и массой растения (r_{xy} = 33). Статистические расчеты подтвердили наблюдавшиеся отрицательные корреляционные связи, значения которых близки к -1, между оводненностью листьев и содержанием сухого вещества в целом, а также по вариационным показателям корней линий картирующей популяции пшеницы. Полученные в настоящей работе результаты имеют ключевое значение для последующего проведения тонкого картирования генов, расположенных внутри выявленных QTL, их возможного клонирования с целью установления физиологических механизмов поддержания водного гомеостаза в клетках высших растений и практического осуществления маркер-вспомогательной оценки водного статуса растений по изученным морфо-физиологическим и практически значимым признакам. Следовательно, нами впервые экспериментально в условиях России установлены генетические локусы (QTL), ответственные за проявление физиолого-ценных признаков, определяющих водный статус растения и его функциональную роль.

ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ КАДМИЯ НА НАКОПЛЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ПРОРОСТКАХ И КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУРАХ ЛЬНА *(LINUM USITATISSIMUM)*

Features of cadmium exposure on accumulation of phenolics in seedlings and callus cultures of flax *(Linum usitatissimum)*

Гончарук Е.А.[1], Горчакова Ю.А.[2], Назаренко Л.В.[2]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений РАН им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; goncharuk.ewgenia@yandex.ru*
[2] *Московский городской педагогический университет, Москва, Россия*

Несмотря на большое число работ до сих пор физиологические и биохимические механизмы адаптации растений к негативным факторам окружающей среды до конца не ясны. Это касается и воздействия тяжелых металлов, поступление которых в почву и растения ежегодно увеличивается. К наиболее опасным и токсичным элементам относится кадмий. Он может накапливаться в растениях в высоких концентрациях, поскольку обладает повышенной подвижностью в почвенном растворе и имеет сродство к тиоловым группам ферментов. Существуют различные пути инактивации избыточных количеств токсичных ионов металла, поступивших в растения. Наряду с образованием фитохелатинов, фитосидерофоров, связыванием с глутатионом, подавлением транспорта токсичных ионов, устойчивость растений к металлу определяется и таким механизмом его детоксикации, как образование устойчивых комплексов или физиологически инертных форм при участии фенольных соединений.

Целью данного эксперимента было изучение воздействия пороговой концентрации кадмия на проростки и каллусные культуры льна масличного. Лен относится к растениям-аккумуляторам кадмия, а также культурой недостаточно изученной с точки зрения фенольного метаболизма, в том числе в условиях стресса.

Объектом исследования являлись стерильные проростки, полученные из семян льна масличного (*Linum usitatissimum*) с. Сайлинг, а также инициированные из сегментов их гипокотилей каллусные культуры. Культивирование проростков и каллусных культур осуществляли на питательной среде Мурасиге-Скуга при 16 ч фотопериоде. В опытных вариантах в питательную среду вносили кадмий (Cd) в концентрации 15 мг/л. Определяли содержание суммы фенольных соединений и содержание флавоноидов, извлекаемых 96%-ным этанолом из растительного материала. Оценивали уровень ПОЛ по количеству малонового диальдегида (МДА).

Присутствие металла в среде приводило к незначительному увеличению суммарного содержания фенольных соединений в проростках (на 12% по сравнению с контрольным вариантом), на фоне снижения количества флавоноидов - основных компонентов фенольного комплекса (на 17% по сравнению с контролем). Что касается фенилпропаноидов, образующихся на ранних этапах биогенеза фенольных соединений, то их уровень как в контрольном, так и опытном варианте был одинаков. Исходя из этих данных можно заключить, что присутствие Cd в среде приводило к изменениям в биосинтезе фенольных соединений на ранних этапах онтогенеза льна-масличного, что проявлялось в «подавлении» флавоноидного пути и, как следствие, снижении их количества. Содержание МДА у проростков и контроле, и в опыте было на одном уровне.

Несмотря на то, что в условиях *in vitro* сохраняются особенности биосинтеза клеток и тканей интактных растений, были выявлены и некоторые изменения в их метаболизме. Так, содержание фенольных соединений в каллусных культур льна было ниже, чем в проростках, преимущественно за счет снижения количества флавоноидов. Однако, в присутствии металла в питательной среде оно увеличивалось: на 44% и 30% соответственно для содержания суммы фенольных соединений и фенилпропаноидов. Количество МДА в каллусных клетках также возрастало (на 25%), что свидетельствует о возможном развитии окислительного стресса и указывает на повреждающее действие кадмия, которое может выражаться проявляться как на уровне клеточных структур (мембран), так и на генетическом уровне (молекулы ДНК). Поскольку в каллусных клетках льна при действии металла содержания веществ фенольной природы увеличивалось, можно предположить, что в этих условиях инициируются защитные механизмы по инактивации токсического действия металла, вызывающего окислительный стресс у растений.

Таким образом, установлено, что состав фенольного комплекса растительных клеток и тканей зависит от уровня их организации. Так, в культивируемых в условиях *in vitro* проростках клеток льна происходит биосинтез как фенилпропаноидов, так и флавоноидов, тогда как в каллусных клетках - преимущественно фенилпропаноидов. При этом у проростков льна детоксикация Cd на начальных этапах онтогенеза в большей степени обеспечивается не функционированием антиоксидантной системы клеток, а иными механизмами, возможно и более поздним «вовлечением» полифенолов в этот процесс. Что касается каллусной культуры, то в этом случае при действии кадмия происходит активация биосинтеза этих вторичных метаболитов, способных образовывать устойчивые комплексы с ионами тяжелых металлов, таким образом снижая их повреждающее действие.

СПОСОБНОСТЬ ГОЛОСЕМЕННЫХ ИНТРОДУЦЕНТОВ К БИОАККУМУЛЯЦИИ ТОКСИЧНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ ПРИ ВЫСОКИХ УРОВНЯХ КОНЦЕНТРАЦИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЕ

The ability of exotic coniferous trees and shrubs to accumulate toxic elements under conditions of polymetallic pollution

Горелова С.В.[1], Фронтасьева М.В.[2], Ляпунов С.М.[3], Горбунов А.В.[3], Окина О.И.[3], Толкунова Е.Ю.[1]

[1] *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Тульский государственный университет им. Л.Н. Толстого, Тула; gsvphysiology08@rambler.ru*
[2] *Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Московская обл., Россия*
[3] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Геологический институт РАН, Москва, Россия*

Зеленое строительство крупных промышленных центров Нечерноземной полосы России предполагает использование интродуцированных видов древесных. Зачастую они занимают более 60-70% от общей флоры городских ценозов. Немаловажным для промышленно развитых регионов является аспект биогеохимической активности видов в условиях городской среды и их устойчивости к воздействию комплекса неблагоприятных факторов. Второе место по шкале токсичности для растений занимает воздействие тяжелых металлов. Как показали проведенные нами исследования, почвы выбранной модельной урбоэкосистемы (г. Тула) характеризовались геохимическими аномалиями по содержанию таких элементов, как Fe, Cu, Zn, As и в ряде случаев – Pb (около 40% городских почв).

Наиболее чувствительными к воздействию неблагоприятных факторов являются голосеменные. Причем такие аборигенные виды смешанных и бореальных лесов, как *Pinus sylvestris u Picea abies* характеризуются слабой жизненностью в условиях полиметаллического загрязнения почвы и воздушной среды урбанизированных экосистем. До 72% сосен выпадает после посадки вдоль городских автомагистралей. Тогда как интродуценты - сосна горная, ель сербская и ель колючая характеризуются жизненностью 1-2 балла. Нами проведено исследование биогеохимической активности 9 видов трех семейств голосеменных и их сортов в условиях модельной урбанизированной экосистемы с высоким уровнем загрязнения (г. Тула). Атомно-абсорбционный анализ хвои и побегов проводился в химико-аналитической лаборатории ГИН РАН на спектрометре «Квант-2А» (Москва, КОРТЭК). Инструментальный нейтронно-активационный анализ (ИНАА) проводился на импульсном реакторе ИБР-2 в ЛНФ ОИЯИ (г. Дубна) с использованием активации эпитепловыми нейтронами наряду с полным энергетическим спектром. Ошибка при определении изотопов Na, K, Cl, As, Sr, Fe, Pb колебалась в пределах 5-10%; V, Ni, Cu, Se, Mo, Cd, Sb – до 30%. В ходе исследований установлено, что туя западная способна аккумулировать большое количество хлора, при этом фактор переноса (TF) элемента из почв может колебаться от 1 до 9,2. Содержание таких тяжелых металлов как V, Cr, Fe, As в условиях полиметаллического загрязнения почв также повышается. Это может сильно снижать жизненность вида в городских ценозах и приводить к выпадению растений из посадок. Ель колючая и можжевельник казацкий в зоне воздействия металлургических производств и автотранспорта способны аккумулировать Fe в 2 и более раз выше средних по растительности данных (RP) в хвое и побегах. При этом наблюдается зависимость от загрязнения этим элементом атмосферного воздуха. *Picea pungens f. Glauca* является биоаккумулятором целого комплекса тяжелых металлов: Fe, Cr, Ni, Zn, сохраняя высокую жизненность. Все изученные голосеменные обладали высоким сродством к калию, кальцию, железу и хрому. Концентрация Cr в хвое и побегах была в 3-14 раз больше, чем в RP (4,5-21 мг/кг сухого вещества). Аккумуляция Fe в хвое голосеменных интродуцентов колебалась в пределах 147-778 мг/кг сухого вещества. При средних данных для видов родов *Picea*, *Pinus* чистых ценозов – 54 мг/кг сухого вещества. Пределы нормальной регуляции элемента превышены у можжевельника чешуйчатого (до 778 мг/кг).

Туя западная, ель колючая, тис ягодный могут быть использованы для мониторинга состояния окружающей среды городских ценозов по биогеохимическому критерию. При этом ель колючая проявляет устойчивость к воздействию автотранспортной эмиссии и полиметаллическому загрязнению почв и может быть рекомендована для создания СЗЗ металлургических предприятий и автомагистралей.

РОЛЬ ЛИПОКСИГЕНАЗНОЙ СИГНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ В ФОРМИРОВАНИИ СТРЕССОВОГО ОТВЕТА РАСТЕНИЙ

The role of lipoxygenase signaling system in the formation of plant stress response

Горина С.С., Топоркова Я.Ю., Петрова О.Е., Мухтарова Л.Ш., Гоголев Ю.В., Гречкин А.Н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук, Казань, Россия; gsvetlana87@gmail.com

Растения, в отличие от животных, не имеют системы гуморального иммунитета, однако обладают комплексом защитных механизмов, которые позволяют распознавать потенциальных патогенов и инициировать защитный ответ. Оксилипины – окисленные производные ненасыщенных жирных кислот – образуются в рамках липоксигеназного каскада, обеспечивая адекватный ответ организма в условиях стресса. Оксилипины составляют обширную и разнообразную группу биологически активных соединений, включающую гидропероксо-, гидрокси-, оксо- и эпокси-производные жирных кислот, дивиниловые эфиры, летучие альдегиды и жасмонаты. Ключевая роль в их биосинтезе принадлежит цитохромам Р450 семейства CYP74: алленоксидсинтазам (АОС), гидропероксидлиазам (ГПЛ), дивинилэфирсинтазам (ДЭС) и эпоксиалкогольсинтазам (ЕАС).

К настоящему времени АОС и ГПЛ ветви липоксигеназного каскада достаточно хорошо изучены. Показано, что жасмоновая кислота (продукт АОС ветви), участвует в перекрестных взаимодействиях с салициловой и абсцизовой кислотами, обеспечивая индукцию защитных реакций растительного организма. Летучие метаболиты ГПЛ ветви являются сигналами взаимодействия растения с насекомыми, а C_{12}- и ω-оксокислоты участвуют в заживлении ран. Наряду с этим, ДЭС и ЕАС ветви липоксигеназного каскада остаются мало изученными. Тем не менее, дивиниловые эфиры обнаруживаются у многих растительных организмов. В связи с этим нами были клонированы и охарактеризованы дивинилэфирсинтазы *Linum usitatissimum* (LuDES), *Ranunculus acris* (RaDES) и *Selaginella moellendorffii* (SmDES1 и SmDES2). Продукты реакции идентифицировали с помощью ГХ-МС, ЯМР и УФ-спектроскопии. Предпочтительными субстратами LuDES и RaDES являются 13-гидроперекиси линолевой (13-ГПОД) и альфа-линоленовой (13-ГПОТ) кислот, преобразующиеся в дивиниловые эфиры – (омега5*Z*)-этеролевую и (омега5*Z*)-этероленовую кислоты, соответственно. Основными продуктами превращения 13-ГПОТ при участии SmDES1 и SmDES2 являются (11*Z*)-этероленовая и (омега5*Z*)-этероленовая кислоты, соответственно. На фитопатогенном штамме *Pectobacterium atrosepticum* SCRI1043 нами показано, что (омега5Z)-этероленовая кислота обладает бактерицидными свойствами, тогда как этеролевая и (11*Z*)-этеролевая – бактериостатическими. При этом экспрессия генов ДЭС после инфицирования возрастает в 50 раз относительно контроля. Таким образом, ДЭС ветвь липоксигеназного каскада участвует в защите растений от патогенов.

Реконструкция филогенетического древа цитохромов Р450 представителей разных классов живых организмов указывает, что ферменты семейства CYP74 возникли на заре эволюционной истории как одни из возможных участников борьбы с продуктами перекисного окисления жирных кислот, являющихся реакционноактивными молекулами. С течением времени роль представителей данного семейства претерпела изменения, позволяя не просто утилизировать, но и преобразовывать гидроперекиси в биологически активные соединения (оксилипины), выполняющие разнообразные функции в организме.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ (13-04-40103-Н, 15-04-08310-а), МК-6529.2015.4 и НШ-1890.2014.4.

«МЯГКИЕ ГНИЛИ» РАСТЕНИЙ: СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ПРЕОБРАЗОВАНИЕ ЭЛЕМЕНТОВ РАСТИТЕЛЬНО-МИКРОБНЫХ ПАТОСИСТЕМ

Plant “soft rots”: structural and functional transformation of the elements of plant-microbe pathosystems

Горшков В.Ю.[1,2], Даминова А.Г.[1], Петрова О.Е.[1], Агеева М.В.[1], Губаев Р.Ф.[1,2], Исламов Б.Р.[1,2], Микшина П.В.[1], Гоголева Н.Е.[1], Тарасова Н.Б.[1], Гоголев Ю.В.[1]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН, Казань, Россия; gvy84@mail.ru*

[2] *Казанский федеральный университет, Казань, Россия*

Взаимодействие растений с фитопатогенными микроорганизмами приводит к формированию интегрированных систем – растительно-микробных патосистем. Со времени возникновения сельского хозяйства взаимоотношения фитопатогенов с растениями рассматривались с двух позиций: атаки и обороны. Однако формирование патосистемы базируется не только на антагонизме партнеров, но и на их интеграции в единую систему. Известно, что в основе взаимодействия макро- и микроорганизмов лежит их генетическая совместимость, которая отражает потенциальную способность партнеров к интеграции. Не менее важную роль при этом играет физиологическая совместимость, которая определяет «готовность» обоих партнеров к взаимодействию, то есть к реализации имеющегося генетического потенциала. Благодаря физиологической совместимости оба организма структурно и функционально преобразуются, что является основополагающим критерием формирования патологической системы. Тонкие механизмы интеграции обычно рассматриваются как важные аспекты взаимодействия растений с биотрофными микроорганизмами, но, на первый взгляд, представляются не столь очевидными при формировании патосистем, включающих некротрофов. Наши исследования нацелены на выявление тонких механизмов физиологической совместимости растений и типичных некротрофных фитопатогенов – энтеробактерий *Pectobacterium atrosepticum*. Эти микроорганизмы вызывают известные заболевания, названные «мягкими гнилями» и «черной ножкой», у растений семейства пасленовые благодаря «грубой силе», а именно – массированной продукции экстраклеточных ферментов, разрушающих растительную клеточную стенку. Пектобактерии относятся к наиболее вредоносным и интенсивно изучаемым фитопатогенам; при этом большинство исследований сосредоточено на выяснении механизмов регуляции продукции экстраклеточных ферментов. В то же время механизмы взаимодействий пектобактерий с растениями, не связанные с применением «грубой силы» и реализующиеся в течение большей части жизненного цикла, остаются «за кадром». Наши исследования сакцентированы на системе *in planta*, причем на разных стадиях формирования растительно-микробных патосистем, и включают три основных раздела: 1) выяснение принципов колонизации пектобактериями различных органов и тканей растений, в том числе оценка возможности образования дифференцированных и функционально специализированных бактериальных фенотипов *in planta* и выяснение приуроченности их образования к тому или иному типу ткани хозяина и/или стадии взаимодействия; 2) характеристика новообразования структурных элементов патосистемы, которыми, в первую очередь, служат углеводные полимеры как растительного, так и бактериального происхождения, формирующиеся в результате процессирования имеющихся полимеров либо синтезирующиеся *de novo* при взаимодействии организмов; 3) выяснение особенностей функционирования регуляторных систем растений и бактерий при формировании патосистем. Несмотря на то, что основным «местообитанием» пектобактерий считаются межклетники коровой паренхимы растений, нами была продемонстрирована важная роль колонизации бактериями сосудов ксилемы в формировании патологической системы. Впервые процесс колонизации ксилемы был описан не как беспорядочная закупорка сосудов бактериальными клетками и «обломками» растительных тканей, а как организованный процесс, связанный с новообразованием структурных элементов. Этими элементами являются охарактеризованные нами «бактериальные эмболы», которые блокируют сосуд и обеспечивают нисходящую миграцию микроорганизмов, что необходимо для системной колонизации хозяина и прохождения популяционного цикла *in planta*. Бактериальные эмболы имеют особый способ формирования, связанный с образованием гелеподобной субстанции из «особых» продуктов распада сложных углеводов растительной клеточной стенки, а также с синтезом бактериальных экстраклеточных полисахаридов. Выявлены различные критерии растительно-микробного «кросс-тока» при взаимодействии пектобактерий и растений. Показано, что чередование стадий взаимодействия в исследуемой системе паразит/хозяин, а также характер инфекционного процесса (типичный или бессимптомный) определяются изменениями в работе регуляторных систем макро- и микроорганизмов, а именно – растительных гормональных систем, опосредованных салициловой, жасмоновой и абсцизовой кислотами и прокариотической системой межклеточной коммуникации. Полученные экспериментальные данные позволили разработать гипотетическую схему цикла развития патосистем, включающих некротрофных пектобактерий, и выяснить важные аспекты структурно-функционального преобразования растений и микробов при их взаимодействии.

Исследования проведены при частичной поддержке РНФ №15-14-10022, РФФИ № 14-04-01750-а, 14-04-01828-а и Министерства образования и науки РФ №МК-7359.2015.4.

РАСТИТЕЛЬНЫЙ «БОДИБИЛДИНГ»: ГЛОБАЛЬНЫЙ ТРАНСКРИПТОМНЫЙ АНАЛИЗ ВОЛОКОН ЛЬНА

Plant "bodybuilding": global analysis of transcriptome of the flax fibers

Горшков О.В., Мокшина Н.Е., Горшков В.Ю., Гоголев Ю.В., Горшкова Т.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН, Казань, Россия; o_gorshkov@mail.ru

Активное развитие и использование методов секвенирования второго поколения NGS (Next-Generation Sequencing) открывает перспективы одновременного анализа всей совокупности экспрессирующихся генов, позволяя изучать геном и его реализацию как целостную систему. Однако использование данных технологий в отношении многоклеточных организмов, каковыми являются растения, сталкивается с проблемой гетерогенности образцов, представляющих совокупность клеток разных типов, на разных стадиях развития. Флоэмные волокна льна являются уникальным объектом исследований с точки зрения биологии индивидуальной клетки в системе *in planta*. Являясь структурным элементом склеренхимы, волокна выполняют роль своеобразных «мускулов», контрактильность которых определяется формированием особого («желатинозного») типа клеточной стенки - третичной (Mellerowicz, Gorshkova, 2012). Такой тип клеточной стенки характеризуется высоким содержанием целлюлозы (до 90%) и практическим отсутствием ксилана и лигнина и может быть представлен в различных органах у разных видов растений. Молекулярные механизмы формирования третичной клеточной стенки в значительной мере не исследованы. Обособленность стадий развития волокон льна в пространстве и во времени, а также наличие морфологического индикатора смены стадий – «точки слома» (Gorshkova et al., 2003), определяют растения льна-долгунца (*Linum usitatissimum* L.) как удачную модельную систему для изучения клеточных механизмов формирования и функционирования клеточной стенки в целом и ключевых стадий развития флоэмных волокон, в частности.

Нами проведено полногеномное транскриптомное профилирование определенного типа клеток (изолированные первичные флоэмные волокна), развивающихся *in planta* и находящихся на стадии формирования третичной клеточной стенки. В качестве сравнения были использованы фрагменты стебля выше и ниже «точки слома», содержащие волокна с первичной и третичной клеточной стенкой, соответственно. Формирование кластеров фрагментов кДНК и секвенирование путем одноконцевого чтения осуществляли с использованием системы MiSeq Illumina. Для каждого образца было получено от 19,3 до 24,5 миллионов ридов (прочтений) длиной 75 нуклеотидов с показателем качества выше Q30. Около 95% ридов были успешно картированы на референсный геном *L. usitatissimum* v1.0 (Phytozome release v.10.1) с помощью программы TopHat v2.0.13 (Kim et al., 2013). Сборку и количественную оценку выравненных с использованием аннотированной модели генов ридов проводили с помощью алгоритма Cufflinks v.2.2.1 (Trapnell *et al.*, 2010). Нормализованные значения уровня экспрессии генов в виде величин FPKM (Fragments Per Kilobase of exon per Million fragments mapped) были использованы для количественной оценки дифференциальной экспрессии в программе Cuffdiff.

В геноме *L. usitatissimum* L. предсказано 43484 белок-кодирующих генов (Wang et al., 2012). Согласно полученным данным, 17,2% генов имели значения FPKM=0, 10,8% генов имели значения FPKM меньше 1, 28,9% - от 1 до 10, 33,7% - от 10 до 100 и у 5,4% генов уровень экспрессии был выше 100. Результаты анализа с использованием алгоритма Cuffdiff свидетельствуют, что из 36012 транскрибируемых генов, 32098 проявляют дифференциальную экспрессию, из которых 1124 гена имеют статистически значимые различия при значении q(FDR)<0,05. Верификацию данных полнотранскриптомного анализа проводили методом количественной ПЦР сопряженной с обратной транскрипцией с использованием последовательностей 23 генов разного уровня экспрессии. Среди генов с дифференциальным характером экспрессии выявлены гены, повышенный уровень экспрессии которых был ранее продемонстрирован в работах, посвященных формированию третичной клеточной стенки (галактозидаза, арабиногалактановые белки, рамногалактуронанлиаза). Также были выявлены новые потенциальные участники процесса, предполагаемая роль которых будет представлена в докладе. Таким образом, метод NGS, осуществляемый на платформе MiSeq Illumina, успешно зарекомендовал себя для анализа растительного транскриптома.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ № 14-04-01778-а и гранта по гос. поддержке ведущих научных школ РФ НШ-1890.2014.4.

РАСТЕНИЯ КАК ЧЕМПИОНЫ ПО СОЗДАНИЮ И МНОГОФУНКЦИОНАЛЬНОМУ ИСПОЛЬЗОВАНИЮ СЛОЖНЫХ УГЛЕВОДОВ

Горшкова Т.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН, Казань, Россия; gorshkova@kibb.knc.ru

Углеводы – класс соединений, наиболее широко представленных в биосфере. Для олиго- и полимерных углеводов (гликанов) характерно исключительное разнообразие индивидуальных структур, базирующееся на принципах соединения мономеров в единую молекулу. Моносахариды могут быть связаны между собой множеством различных способов, позволяя малыми средствами, уже на уровне олигомерных структур, формировать материальную базу для обеспечения своеобразия различных живых систем и их жизненных проявлений на клеточном и организменном уровнях. Сложные углеводы представлены в живых организмах как в виде олиго- и полисахаридов, так и в виде гликоконъюгатов, в которых гликаны соединены с неуглеводным компонентом, например, белком или липидом. Совокупность гликанов, синтезируемых живым организмом (гликом), обладает, помимо прочего, колоссальной информационной емкостью, реализуемой в процессах узнавания и реакции на различные воздействия. Внимание к сложным углеводам резко возросло в последнее время. Отчасти это связано с тем, что после секвенирования геномов и характеристики протеомов стало ясно, что число генов и индивидуальных белков относительно невелико и исчисляется у высших организмов несколькими десятками тысяч. Использование углеводных структур, как в виде гликоконъюгатов, так и в виде олиго- и полигликанов, создает разнообразие, адекватное разнообразию жизненных проявлений. Информация, заложенная в этом разнообразии, реализуется на разных уровнях организации от субклеточного до видового. Основная масса углеводов сосредоточена в клеточных стенках растений. Долго существовавшее представление о растительных клеточных стенках как о сравнительно однородной, инертной, «серой» клетчатке сменилось в последние годы «многоцветьем» специализированных надмолекулярных структур, содержащих разнообразные сложные полисахариды. Растение «умеет» формировать и использовать сложные разветвленные полисахариды нерегулярного строения, специализированные под выполнение различных функций. Разновидности сложных углеводов уникальны не только для каждого вида растений, но и в различных тканях одного растения и на разных стадиях развития одной ткани.

Клеточная стенка – особая структура для растительного организма. В ходе эволюции она сформировалась после приобретения способности к фотосинтезу, в результате функционирования которого появилась необходимость выведения (связывания) части метаболически и осмотически активных моносахаридов, образующихся на свету. Эта задача была решена путем иммобилизации моносахаридов в относительно инертные полисахариды и отложение их за пределами плазмалеммы. Формирование своеобразного скелета из полисахаридов вокруг каждой растительной клетки во многом определило особенности биологии растений, в частности в таких процессах как рост, морфогенез, передача сигнала. Более того, эти процессы в растительном организме во многом базируются именно на свойствах полимеров клеточной стенки. В ходе эволюции в растениях появились исключительно разнообразные полисахаридные структуры, обладающие тканевой и функциональной спецификой. Высшие растения – безусловные чемпионы по созданию и использованию сложных и разнообразных полисахаридов.

Растительная клеточная стенка – динамичная структура, в которой не только откладываются новые слои, но и постоянно идут процессы модификации уже отложенных полисахаридов. Эти модификации приводят к формированию большого числа олигосахаридных фрагментов, из которых, по крайней мере, часть обладает физиологической активностью, запуская или ингибируя различные процессы. Регуляторные свойства выявлены лишь у небольшого числа фрагментов, образующихся при расщеплении любого из полимеров растительной клеточной стенки, причем при гидролизе одного полисахарида могут получаться фрагменты с противоположным действием. Совокупность физиологически активных продуктов расщепления полисахаридов клеточной стенки может приводить к формированию своеобразного информационного поля, колебания в котором составляют важный компонент сигнальных систем растения. Все это свидетельствует о важности профилирования олигосахаридного набора в растительных тканях, его изменения под влиянием различных факторов и осознания функциональной роли, которая может быть особенно значимой именно в растительных организмах.

В последние годы появились методические возможности, которые позволяют существенно расширить и углубить исследования сложных углеводов и их физиологических функций. Эти подходы можно подразделить на две основные группы: одна связана с анализом непосредственно углеводов, а вторая использует возможности молекулярно-генетических методов. В докладе будут представлены результаты использования таких подходов, а также обобщенные представления о молекулярных механизмах регуляции физиологических процессов с участием сложных углеводов.

Исследования по тематике доклада проводятся при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ № 14-04-01591 и гранта по гос. поддержке ведущих научных школ РФ НШ-1890.2014.4.

ЭКСПРЕССИЯ ГЕТЕРОЛОГИЧНЫХ ГЕНОВ ДЕСАТУРАЗ СТИМУЛИРУЕТ БИОСИНТЕЗ НЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ МЕМБРАННЫХ ЛИПИДОВ В РАСТЕНИЯХ И УВЕЛИЧИВАЕТ ИХ ТОЛЕРАНТНОСТЬ К СТРЕССОВЫМ ФАКТОРАМ

The expression of heterologous desaturases genes stimulates the biosynthesis of unsaturated fatty acids of membrane lipids in plants and increases their tolerance to stress factors

Гра О.А.[1], Хаджиев Т.А.[1,3], Тюрин А.А.[1,3], Кирпа-Несмиян Т.Н.[2], Рудас В.А.[2], Герасименко И.М.[2], Юрьева Н.О.[1], Шелудько Ю.В.[2], Голденкова-Павлова И.В.[1]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия; irengold58@gmail.com*

[2] *Институт клеточной биологии и генетической инженерии Национальной академии наук Украины, Киев, Украина; ysheludko@ukr.net,*

[3] *Российский государственный аграрный университет - МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия, alexjofar@gmail.com*

Модуляция ненащенности жирных кислот – это механизм, который определяет изменения в текучести мембран. Текучесть мембран может непосредственно регулировать активность мембран-связанных белков, таких как различные транслокаторы, ионные каналы, киназы и сенсорные белки. Живые организмы обычно способны синтезировать насыщенные жирные кислоты (ЖК), которые затем подвергаются модификациям, ключевыми из которых является введение двойных связей в цепях ЖК, что и влияет на физические свойства мембран (текучесть). В процесс введение двойных связей между атомами углерода в цепи ЖК мембранных липидов вовлечены специфические ферменты – десатуразы. Гены 9-и 12-десатураз отвечают за образование первой и второй двойной связи в остатках ЖК, соответственно.

Первоначально, сконструирован рекомбинантный ген, имеющий транскрипционно-трансляционное слияние целевого гена, кодирующего цианобактериальную дельта 9-десатуразу с геном, кодирующим зеленый флуоресцентный белок. Далее, сконструированы экспрессионные вектора для транзиентной экспрессии в растениях рекомбинантного гена, кодирующего десатуразу::зеленый флуоресцентный белок, слитого с различными лидерными последовательностями (для локализации в хлоропластах; для локализации в эндоплазматическом ретикулуме как с сигналом удержания в нем, так и без такового; для локализации в апопласте и для локализации в цитоплазме). Методом транзиентной экспрессии в растениях табака *Nicotiana benthamiana* продемонстрировано, что (1) сконструированные экспрессионные вектора обеспечивают эффективную экспрессию рекомбинантного гена и (2) лидерные последовательности обеспечивают корректную локализацию белкового продукта рекомбинантного гена в соответствующих компартментах растительной клетки (визуализация компартментализации белковых продуктов проведена с использованием методов флуоресцентной и конфокальной сканирующей микроскопии).

Получены трансгенные линии растений табака, картофеля и орхидей, экспрессирующие десатуразы с различной субстратной специфичностью - 9-и 12-десатуразы, в том числе и отличающиеся локализацией 9-десатуразы в компартментах растительной клетки.

Сравнительный молекулярно-генетический и биохимический анализ трансгенных линий растений показал: (1) взаимосвязь между локализацией десатуразы и ее функциональной эффективностью в трансгенных растениях; (2) экспрессия гетерологичных десатураз приводит к изменению количества ненасыщенных жирных кислот в трансгенных линиях растений; (3) отмечена корреляция между уровнем экспрессии и модуляцией качественного и количественного состава ненасыщенных жирных кислот мембранных липидов; (4) биохимические и физиологические характеристики трансгенных линий растений, а также результаты биотестов свидетельствуют об увеличение толерантности линий трансгенных растений к стрессовым абиотическим и биотическим факторам среды.

Полученные результаты позволяют заключить, что экспрессия гетерологичных генов десатураз в растениях, в большей степени 9-десатуразы, позволит придать растениях комплексную устойчивость к неблагоприятным факторам среды.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 14-04-01616_а.

ИЗМЕНЕНИЕ МОРОЗОСТОЙКОСТИ РАСТЕНИЙ АРАБИДОПСИСА С ПОВЫШЕННОЙ ИЛИ СНИЖЕННОЙ ЭКСПРЕССИЕЙ ГЕНА *AOX1A,* КОДИРУЮЩЕГО АЛЬТЕРНАТИВНУЮ ОКСИДАЗУ МИТОХОНДРИЙ

The frost-resistance change of *Arabidopsis* plants with overexpression or reduced expression of the *Aox1a*, encoding mitochondrial alternative oxidase

Грабельных О.И.[1,2], Боровик О.А.[1], Любушкина И.В.[1,2], Побежимова Т.П.[1], Королева Н.А.[1], Забанова Н.С.[1,2], Поморцев А.В.[1], Войников В.К.[1]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия; grolga@sifibr.irk.ru*

[2] *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Иркутский государственный университет», Иркутск, Россия*

Альтернативная оксидаза (АО) наряду с цитохромоксидазой является терминальной оксидазой дыхательной цепи митохондрий растений и катализирует окисление убихинола с восстановлением O_2 до H_2O, при этом она не является протон-транслоцирующей и при транспорте электронов через АО обходятся два пункта сопряжения в дыхательной цепи – комплексы III и IV. Показана роль АО в процессах акклимации растений к различным абиотическим и биотическим стрессам, в том числе к действию низкой температуры. Однако роль АО при действии отрицательных температур на растения не выяснена. В связи с этим в настоящей работе была изучена устойчивость к действию отрицательной температуры растений *Arabidopsis thaliana* с пониженной и повышенной экспрессией гена *Aox1a*. Использовали растения *A. thaliana* (L.) Heynh. линии Col-0 (растения дикого типа, экотип Columbia), линии AS-12 (растения, трансформированные конструкцией, несущей ген *Aox1a* под контролем промотора CAMV 35S в антисенсовой ориентации, NASC stock number N6707) и линии XX-2 (растения, трансформированные конструкцией, несущей ген *Aox1a* в сенсовой ориентации, NASC stock number N6591). Семена мутантных линий были любезно предоставлены В.И. Тарасенко (СИФИБР СО РАН).

Растения выращивали на опытной станции Фитотрон СИФИБР СО РАН при температуре 23/20°С (день/ночь), 16 ч фотопериоде и освещенности 250 мкмоль/($м^2$·с). В возрасте 38 дней растения подвергали холодовому закаливанию, которое проводили в течение 7 дней при 5°С, 24 ч фотопериоде и освещенности 180-200 мкмоль/($м^2$·с). Морозоустойчивость контрольных (в возрасте 40 дней) и закаленных растений оценивали путем промораживания растений при температурах -2, -4, -6 и -8°С в течение 2 ч и последующего отрастания.

Контрольные растения дикого типа и растения с измененной экспрессией *Aox1a* не имели никаких фенотипических отличий. Интенсивность дыхания листьев контрольных растений достоверно не отличалась между линиями, но в зависимости от изменения экспрессии *Aox1a*, изменялся вклад АО в дыхание. Так, если вклад АО в дыхание листьев дикого типа был равен около 16%, то в листьях AS-12 он понижался до 8%, а в листьях XX-2 повышался до 48%. Показано, что в оптимальных условиях роста различие в активности АО достоверно не влияло на содержание сахаров, но оказывало влияние на содержание пролина и активность антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы - СОД и растворимой гваяколовой пероксидазы - ПО). Морозоустойчивость контрольных растений была выше у линий AS-12 и XX-2. Если контрольные растения дикого типа погибали при температуре -6°С, то мутантные линии выдерживали действие этой температуры. Следовательно, нам удалось выявить тот факт, что изменение экспрессии гена *Aox1a* может приводить к существенным перестройкам в метаболизме клетки, направленным на повышение устойчивости к низким температурам.

Воздействие низкой положительной температуры приводило к активации дыхания, синтезу дегидринов, увеличению содержания водорастворимых углеводов и пролина в листьях всех линий. Усиление интенсивности дыхания было наибольшим у Col-0 и наименьшим у AS-12. Накопление пролина было больше у линий XX-2 и AS-12. Отмечалась тенденция к снижению содержания пероксида водорода у мутантов с измененной экспрессией АО, а содержание супероксидного радикала после действия низкой положительной температуры было достоверно ниже у мутанта со сниженной экспрессией АО по сравнению с растениями дикого типа и линией с повышенной экспрессией АО. Низкое содержание супероксидного радикала у мутанта со сниженной экспрессией АО, по-видимому, отчасти было обусловлено увеличением активности общей СОД, хотя увеличение активности общей СОД и ПО под действием низкой положительной температуры было характерно для всех линий арабидопсиса. Физиолого-биохимические изменения во время действия низкой положительной температуры приводили к повышению морозоустойчивости растений арабидопсиса всех изученных линий. Закаленные растения арабидопсиса выдерживали действие температур -6 и -8°С.

Таким образом, нами выявлены различия в базовой морозоустойчивости растений арабидопсиса с измененной экспрессией гена *Aox1a,* однако не выявлено существенных различий в морозоустойчивости закаленных растений дикого типа и мутантных линий. Можно заключить, что морозоустойчивость растений зависит от активности АО, однако снижение ее активности может компенсироваться активацией других защитных механизмов.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №15-04-06533.

ВЛИЯНИЕ СПЕКТРА ИЗЛУЧЕНИЯ СВЕТОДИОДНЫХ ИСТОЧНИКОВ СВЕТА НА МОРФОГЕНЕЗ РАСТЕНИЙ НЕСКОЛЬКИХ СОРТОВ СОИ

Influence of the radiation spectrum of led light sources on the morphogenesis of several cultivars of *Glycine max* plants

Григоращенко Я. А., Шихов В. Н., Ушакова С.А., Тихомиров А.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биофизики Сибирского отделения Российской академии наук, Академгородок, Красноярск, Россия; ubflab@ibp.ru

В искусственных замкнутых экологических системах (ЗЭС) длительного срока функционирования исключительно важно создание оптимальных условий для существования в них человека. Роль высших растений в таких ЗЭС многообразна. Одной из важных задач, которые необходимо решить, является обеспечение человека растительной частью диеты. Реальное удовлетворение потребностей человека полноценной растительной диетой возможно только за счет многокомпонентного звена высших растений. В настоящее время разработаны рекомендации по включению в ЗЭС различных видов высших растений, способных обеспечить формирование такой диеты человека. Часть из предложенных культур (пшеница, салат) прошли тщательную экспериментальную проверку в вегетационных камерах в контролируемых условиях внешней среды, поэтому они могут быть включены в состав растительного звена создаваемых ЗЭС. Часть из предложенных культур были исследованы только частично, что требует дополнительных проверок (соя, томаты и др.). Так как в большинство разработанных рекомендаций соя входит как обязательный элемент звена высших растений, целью данной работы являлось изучение влияния спектрального состава света на продуктивность, рост, морфогенез растений и состояние фотосинтетического аппарата листьев сои, выращенных при освещении светодиодными облучателями различного спектрального состава.

В качестве объектов исследования были взяты 4 сорта сои с пониженной чувствительностью к фотопериоду, любезно предоставленные сотрудниками ВИР: «Светлая» (Россия, Рязанская обл.), 1040-4-2 (Швеция), ПЭП 27 (Россия, Ленинградская обл.) и ПЭП 28 (Россия, Ленинградская обл.). Источниками света служили светодиодные облучатели с фитоспектром (имитирующим усредненный спектр поглощения пигментов зеленого листа) и с близким к равноэнергетическому спектру в области ФАР (белый свет). Интенсивность ФАР на уровне листьев верхнего яруса составляла (660 ± 50) мкмоль/($м^2$с). Концентрация CO_2 – естественная, температура воздуха 23÷25°С. Фотопериод - 16 ч.

Проведенные исследования показали, что спектральный состав света, вне зависимости от исследуемых сортов, оказал существенное влияние на высоту растений. К моменту перехода в фазу цветения и плодоношения высота растений, выращенных под облучателями белого света, оказалась достоверно ниже, чем у растений, выращенных под облучателями с фитоспектром. При этом на количество листьев, за исключением шведского сорта «1040-4-2» исследуемые спектры излучения светодиодных облучателей значимого влияния не оказали. Не повлияли спектры излучения и на темпы развития растений: к 36-ти суточному возрасту от всходов все растения находились на стадии цветения и плодоношения. Влияние спектра ФАР на биомассу растений в значительной степени зависело от сортовых особенностей: у 3-х сортов (ПЭП 27, ПЭП 28, 1040-4-2), как общая биомасса растений, так и масса семян, выращенных под белым светом, была выше, а у сорта «Светлая» ниже, чем у растений, выращенных под фитоспектром. Спектральный состав света не оказал значимого влияния на содержание сырого протеина в семенах сои, количество которого, в зависимости от сорта, находилось в пределах 27¸32% (в расчете на сухое вещество). Влияние спектрального состава света на активность фермента уреазы в семенах сои также зависело от сортовых особенностей растений. Как наибольшее, так и наименьшее значение активности фермента было обнаружено в семенах растений, выращенных под облучателями с фитоспектром. В целом, существенно значимых различий по продуктивности и исследованным физиологическим показателям растений сои, выращенных под облучателями с фитоспектром и с белым светом, не наблюдалось. Применительно к ЗЭС в этой ситуации целесообразно в дальнейших экспериментах по выращиванию сои использовать светодиодные облучатели с близким к равноэнергетическому спектром излучения в области ФАР. Такой выбор спектра для выращивания растений в ЗЭС удачно сочетается с решением проблемы цветопередачи в световой среде обитания человека.

Исследование проведено при поддержке Российского Научного Фонда (проект №14-14-00599).

О НЕОДНОЗНАЧНОЙ РЕАКЦИИ КУЛЬТУРЫ ВОДОРОСЛИ ХЛОРЕЛЛА НА ВОЗДЕЙСТВИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

On the ambiguous response of alga *Chlorella* to the effects of heavy metals

Григорьев Ю.С., Давыдова Н.С., Вишняков А.Н.

Федеральное государственное автономное образовательного учреждение высшего профессионального образования Сибирский федеральный университет, Красноярск, Россия; gr2897@gmail.com

Исследовано действие тяжелых металлов (ТМ) на показатели роста и интенсивность замедленной флуоресценции термофильного штамма культуры водоросли *Chlorella vulgaris* Beijer. Хлореллу выращивали на 50% среде Тамия в культиваторе КВ-05 при температуре 36±0,5°С и средней интенсивности белого света 60 Вт/м^2 Благодаря непрерывному вращению емкости с суспензионной культурой, обеспечивалось активное поступление в нее углекислого газа из воздушной среды, и одновременно создавались равные условия для роста всех клеток. При начальной плотности засева (40-50)·10^3 клеток/см^3 прирост численности клеток за 24 часа культивирования варьировал в зависимости от интенсивности аэрации от 50 до 300 раз.

Влияние ТМ на рост хлореллы оценивали в многокюветном культиваторе КВМ-05. Равные условия для роста клеток по температуре (36±0,5°С), интенсивности белого света (50 Вт/м^2), перемешиванию и снабжению углекислым газом из воздуха для 24 проб культуры водоросли создавались благодаря вращению кассеты с пробами. Прирост численности клеток, при засеве 25·10^3 клеток/см^3 составлял за 22 ч культивирования 30-40 раз. Изменение численности клеток контролировали по оптической плотности выращенной суспензии водоросли с помощью специализированного прибора ИПС-03.

Воздействие ТМ на фотосинтез водоросли определяли методом регистрации разработанного нами относительного показателя замедленной флуоресценции (ОПЗФ) хлорофилла клеток с помощью флуориметра Фотон 10. Суть метода состоит в том, что миллисекундная замедленная флуоресценция (ЗФ) измеряется при двух интенсивностях возбуждающего света. В «режиме высокого света» интенсивность ЗФ представлена в основном быстрыми компонентами затухания, которые при воздействии на первичные процессы фотосинтеза значительно снижаются. В «режиме низкого света» в свечении доминируют медленные компоненты, интенсивность которых, при ингибировании фотосинтетического транспорта электронов, многократно возрастает. В результате отношение этих двух параметров (величина ОПЗФ) снижается в десятки раз при воздействии на фотосинтез растительной клетки. Измерение ОПЗФ суспензии водоросли проводили при температуре 22-24°С через несколько минут после внесения в кюветы выращенной культуры хлорелла и растворов тяжелых металлов. Объем вносимой культуры водоросли был таким, чтобы ее плотность в кювете с 5 мл дистиллированной воды составляла 10^5 кл/см^3.

Было обнаружено, что величина ОПЗФ хлореллы, после добавления сульфата меди в концентрации 0,02 мг Cu^{+2}/дм^3, может как снижаться в нескольких раз, так и оставаться практически неизменной. Такой диапазон изменения данного показателя может иметь место для проб растущей культуры водоросли, отбираемых из культиватора КВ-05 каждые 20-30 минут. Данный эффект наиболее характерен для культуры водоросли, находящейся в логарифмической фазе роста, когда численность клеток не превышает 10^6 кл/см^3. По мере выхода на плато растущей культуры водоросли, реакция ОПЗФ на внесение ионов меди становиться более однозначной, проявлясь в большем или меньшем снижении величины данного показателя. Наиболее стабильное падение ОПЗФ в среде с медью наблюдается при очень высоких плотностях суспензии хлореллы, когда культура, выращиваемая при активной аэрации, достигает численности 10·10^6 кл/см^3.

Одной из причин различной чувствительности водоросли к ионам меди могло бы быть разное состояние клеток, в связи с возможным синхронным ростом исследуемых культур. Однако параллельно проведенное изучение характера распределения по размерам клеток исследуемых культур водоросли не выявило какой-либо его взаимосвязи со степенью снижения ОПЗФ хлореллы на внесение ионов меди.

Одновременно было установлено, что если выращенная культура хлореллы была не чувствительна к ионам меди по показателю ОПЗФ, то после перенесения суспензии в культиватор КВМ-05 она имела прирост близкий к варианту, в который тяжелый металл не добавлялся. И наоборот, если внесение ионов меди вызывало значительное снижения ОПЗФ культуры водоросли, то ее дальнейший рост практически полностью останавливался.

Для выявления цикличности в состоянии растущей культуры водоросли был поставлен следующий эксперимент. В культиватор КВМ-05 были установлены 24 пробы одной культуры хлореллы. В первые несколько часов, на которые приходился лаг-период, с интервалом 1 ч вносился каждый раз в новые пробы раствор меди. После 24 ч культивирования была измерена оптическая плотность суспензии клеток в образцах с разным временем добавления ТМ. Оказалось, что прирост культуры в пробах был различным. При этом количество клеток в пробах водоросли с ионами меди, внесенными в тот или иной период роста, могло практически не отличаться от варианта, в который ТМ не добавлялся.

Неоднозначная реакция водоросли хлореллы была обнаружена и на действие других ТМ. Обсуждаются возможные защитные механизмы клеток водоросли хлорелла по отношению к тяжелым металлам.

ОСОБЕННОСТИ НАКОПЛЕНИЯ НЕКОТОРЫХ МАКРО- И МИКРОЭЛЕМЕНТОВ РАСТЕНИЯМИ *GENTIANA LUTEA* L. ИЗ РАЗНЫХ МЕСТ ПРОИЗРАСТАНИЯ В УКРАИНСКИХ КАРПАТАХ

The features of the accumulation of some macro- and microelements in *Gentiana lutea* L. plants from different habitats in the Ukrainian Carpathians

Грицак Л.Р., Майорова О.Ю., Дробык Н.М.

Тернопольский национальный педагогический университет имени Владимира Гнатюка, Тернополь, Украина
hrytsak1972@gmail.com

Украинские Карпаты – это территория с богатым видовым составом растений. Однако, значительная антропогенная деятельность в этом регионе привела не только к уничтожению природных мест произрастания фитобиоты, но и к нежелательным изменениям в структуре популяций растений, сокращению их ареалов, а в некоторых случаях – к исчезновению видов из состава флоры. Это относиться и к виду *Gentiana lutea* L., обладающему ценными лекарственными свойствами. В конце 19 в. растения *G. lutea* произрастали на многих полонинах Украинских Карпат. Теперь осталось только 27 его популяций, из которых 9 уже не способны к саморегуляции внутрипопуляционных процессов и адекватной реакции на воздействие внешних факторов. Результаты исследований показывают, что введение заповедного режима не гарантирует эффективного сохранения этого вида. Поэтому, необходимо разрабатывать целый комплекс мероприятий для восстановления его исчезнувших популяций и стабилизации тех существующих, которые уже не способны к самовозобновлению. Учитывая то, что использование только традиционных методов для реализации этой задачи не позволяет получить желаемый эффект, целесообразным является применение биотехнологических методов. Однако, разработка технологии укоренения полученых в процессе микроклонального размножения растений *G. lutea* и методики акклиматизации укорененных *in vitro* растений к условиям *ex vitro*, с целью дальнейшей их репатриации в природные условия, предусматривает изначально изучение химического состава почв с природных мест произрастания этого вида и особенностей накопления растениями тех макро- (Ca, Na, K, Fe, Mg) и микроэлементов (Cu, Zn, Co, Mn), которые являются важными для процессов жизнедеятельности растений. Именно это и было целью наших исследований. Нами были отобраны образцы почв и растений из восьми природно-исторических изолированных популяций *G. lutea* в Украинских Карпатах: горы (гг.) Шешул-Павлык, полонина (пол.) Лемська, пол. Рогнеска (хребет (хр.) Чорногора), гг. Трояска-Татарука, гора (г.) Ворожеска, пол. Крачунеска (хр. Свидовець), г. Поп Иван и г. Петрос (хр. Мармарошские Альпы); а также с одной искусственно созданной популяции на г. Пожижевська (хр. Чорногора). Определяли показатели pH в почве, валовое содержание тяжелых металлов (Zn, Cu, Mn, Co), а также Ca, Na, Fe, Mg в почве и общую концентрацию этих элементов в растениях; общее количество калия в почве и в растениях. Для определения интенсивности поглощения макро- и микроэлементов растениями рассчитывали их коэффициенты биологического накопления (КБН).

В местах произрастания изучаемого вида преобладают сильно щебенистые горно-лугово-буроземные почвы, pH почвенного раствора которых колеблется от 3,70 до 4,75. Результаты исследований показали, что валовые концентрации химических элементов в образцах почв, взятых в пределах одного горного массива, могут отличаться не более чем в 1,1-1,3 раза, более существенные отличия концентраций (в 1,3-2,1 раза) наблюдаются при сравнении образцов почв из разных горных хребтов. Однако, несмотря на это, соотношение концентраций элементов между собой в почвах, даже из разных мест произрастание *G. lutea*, приблизительно одинаковое, что позволяет расположить их в следующий нисходящий ряд: Fe>K>Na>Mg>Ca>Zn>Mn>Cu>Co. При этом среднее валовое содержание Fe составляет 27323,5 мг/кг, K – 3100,4 мг/кг, Na – 2934,6 мг/кг, Mg – 463,8 мг/кг, Ca – 125,7 мг/кг; содержание Mn (66,3 мг/кг) у почвах не превышало предельно допустимые концентрации (ПДК), а Zn, Cu, Co – превышало ПДК в 1,8–5,8 рази. Концентрация химических элементов в пробах растений *G. lutea* также значительно колеблется и в большой степени зависит от количества их соединений в почвах. При этом наблюдается определенная закономерность в поглощении растениями элементов, которые в порядке уменьшения средних значений их концентраций можно расположить в следующий ряд: K>Na>Mg>Fe>Ca>Zn>Mn>Cu>Co. Последовательность расположения элементов в этом ряду практически повторяет их очередность в «почвенном ряде», за исключением Fe. Среднее содержание K в пробах составляет 3624,0 мг/кг, Fe – 183,51 мг/кг, Na – 1006,8 мг/кг, Mg – 867,8 мг/кг, Ca – 71,5 мг/кг.

Известно, что одним из факторов, определяющих величину перехода химического элемента в растение, является исходное валовое содержание химического элемента в почве. Тесная связь между содержанием элемента в растениях и его валовым количеством в почве из исследованных элементов характерна только для K, Mg и Mn (коэффициент корреляции колеблется от 0,88±0,1 до 0,95±0,09). Для этих элементов (особенно для Mg) нами определен самый высокий КБН – больше 1. Наряду с этим, высокое содержание в почве Fe и Na практически не приводит к возрастанию концентрации этих элементов в растениях, что свидетельствует о преобладании генетического фактора в накоплении этих металлов растениями. Таким образом, поглощение химических элементов растениями *G. lutea* зависит как от их содержания в почвах, так и от генетически обусловленной потребности в них.

ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ ФАКТОРЫ СТАБИЛИЗАЦИИ МЕМБРАН У ВОДОРОСЛЕЙ В КУЛЬТУРЕ

Intracellular factors of algae membrane stabilization in culture

Грубинко В.В.

Тернопольский педагогический университет, Тернополь, Украина; v.grubinko2@yahoo.com

Известно, что мгновенный ответ и долговременные адаптации клеток растений на воздействие токсикантов в значительной мере связаны с изменениями их мембранных структур. В наших исследованиях ранее установлено, что ионы цинка, свинца и дизельное томливо индуцируют в клетках многих водорослей образование вторичных концентрических мембран, совокупность которых называют двойной концентрической мембранной системой. Уникальный эффект образования в клетках вторичной концентрической мембраны вызывает каскад изменений структуры клетки, ее состава и обмена веществ. В связи с этим возникает вопрос о регенеративных свойствах клеток в отношении репарации клеточных мембран.

Исследования проводили на культурах одноклеточных синезеленых – *Calothrix braunii* Bornetet Flahault HPDP-16, зеленых – *Chlorella vulgaris* Beij. CCAP-211/11в и эвгленовых – *Euglena gracilis* Klebs HPDP-114 водорослей. В экспериментах к культурам в каждом случае отдельно добавляли водне растворы солей металлов $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ и $Pb(NO_3)_2$ из рассчета на ион: Zn^{2+} - 2,0 мг/дм^3 и 5,0 мг/дм^3; Pb^{2+} - 0,2 мг/дм^{3}и 0,5 мг/дм^3, а также дизельное томливо в количестве 0,1 и 0,25 мг/дм^3. Период инкубации клеток водорослей с указанными веществами составил 1, 3 и 7 суток.

В каждом случае в клетках выявлено образование вторичной концентричной мембраны в той или иной степени выраженности, что зависело от вида водоросли и характера воздействия. Мембраны были разными по толщине и в разной степени отдалены от центра клеток. В случае воздействия ионов цинка (биогенный металл) этот процесс развивается в течение семи суток, а для свинца и дизельного топлива удвоение мембран происходит на третьи сутки воздействия этих токсикантов.

Сравнительный анализ состава липидов мембран клеток показал увеличение их содержания в клеточных мембранах интоксицированных растений по сравнению с растениями, обитающими в физиологически нормальных условиях. У клеток в физиологически адекватной среде количество мембранных липидов в течение эксперимента было постоянным, а в клетках, произрастающих в токсической среде в составе липидов увеличивается как общее содержание липидов, так и относительное содержание триацилглицеролов, фосфолипидов, а также ненасыщенных жирных кислот.

Кроме липидов, стабильность мембран определяется белками, содержание которых в эксперименте увеличивалось крайнее медленно, но пропорционально времени воздействия токсикантов. По-видимому, это связано и с качественными изменениями их состава, поскольку биосинтез новых (адаптивных) форм белков более длителен по времени и является энергетически зависимым процессом.

Белки, как и липиды, задействованы в образовании двойных концентрических мембран. Прежде всего, они принимают регуляторное участие в конформационных изменениях мембран, а также изменяют их проницаемость как факторы организации ионных каналов. С ними связаны также межфазные липид-белковые перестройки, обеспечивающие в значительной степени интенсивность метаболизма и его контроль. Анализ содержания белков в мембранах клеток водорослей при воздействии ионов цинка, свинца и дизельного топлива свидетельствует о большей стабильности белкового комплекса мембран растений, которая, вероятно, обеспечивает поддержание структуры макромолекул в состоянии определенной конформационной гибкости даже в токсических условиях обитания водорослей.

Обнаружена взаимосвязь в динамике количества белков и липидов клеточных мембран. В случае увеличения содержания липидов количество белков снижается ниже показателя в контроле.

Выявленные изменения, скорее всего, направлены на оптимизацию клеткой проницаемости мембран, ионного транспорта и функционирования ферментов. Например, при токсических воздействиях выявлена активация мембранных АТФ-аз, накопление клетками ионов калия и кальция и выброс ионов натрия.

Таким образом, при внешнем токсическом воздействии у водорослей клеточные мембраны постоянно обновляются. Характер изменений скоростей обновления мембранних липидов и белков позволяет предположить наличие надежных механизмов образования плазмалеммы в поврежденных клетках, которые обеспечивают высокую надежность этого процесса. Последняя достигается, прежде всего, за счет самого механизма образования мембранных структур в полярних средах за счет самосборки.

Неизвестными остаются механизмы запуска и регуляции дупликации мембран, что может быть использовано для управления адаптациями водных растений к токсическим факторам, а также получения с помощью водорослей биотехнологически ценных липидов.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ CLAVATA3/ESR-RELATED (CLE) ПЕПТИДОВ НА РОСТ ПЕРВИЧНОГО КОРНЯ *ARABIDOPSIS*

Study of the CLAVATA3/ESR-related (CLE) peptides on *Arabidopsis* primary root growth

Грушевская М.С., Стриж И.Г.

Биологический факультет, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия
masha.gr@me.com

Уже более двадцати лет большой интерес исследователей, изучающих регуляторные системы растений, привлекают сигнальные пептиды. Великое множество таких пептидов создает сложную сигнальную сеть, выполняя при этом совершенно разнообразные функции, основанием для чего является их способность моделировать межклеточное взаимодействие. Функции одного из семейств сигнальных пептидов CLE к настоящему времени неплохо изучены. Роль CLV3 – первого установленного представителя семейства кажется очевидной в процессе регулирования пролиферативной активности стволовых клеток апикальной меристемы побега. Однако нет четких представлений о том, каков механизм его влияния на апикальную меристему корня (АМК). Известно, что в концентрации равной 1мкМ химически синтезированный аналог CLV3 (RTVPSGPDPLHH) существенно подавляет рост корней проростков *Arabidopsis* уже на 14 день выращивания. В нашем исследовании мы решили проверить, во-первых, каким образом действуют гораздо более низкие концентрации пептида CLV3 на АМК, и, во-вторых, возможно ли обнаружит эффект данного пептида на более ранних стадиях прорастания семян. Дополнительно мы решили исследовать действие низких концентрации химического аналога CLV3 пептида (RMVPNPPDPLHN) *Physcomitrella patens* на АМК *Arabidopsis*.

Для этой работы мы использовали проростки *Arabidopsis thaliana*, выращенные стерильно на агаризованной питательной среде ½ Мурасиге – Скуга, в условиях 16 ч фотопериода и при температуре 25°С.

Мы не обнаружили достоверной разницы между длинами первичных корней проростков, выращенных на среде с добавлением CLV3 пептида *Physcomitrella patens* в концентрациях от 0,01 нМ до 1нМ.

При исследовании влияния низких концентраций CLV3 пептида *Arabidopsis*, его титровали в концентрациях от 10 фМ до 1мкМ. Уже на четвертый день была обнаружена значительная разница между длинами корней проростков. Таким образом, мы можем с уверенностью заявить, что CLV3 пептид *Arabidopsis* способен подавлять рост первичного корня уже на ранних этапах его развития. Механизм такого действия остается не ясным, но мы продолжаем его поиски.

АБК И АБК-ЗАВИСИМЫЕ ОТВЕТЫ РАСТЕНИЙ КАК ФАКТОРЫ, ДЕТЕРМИНИРУЮЩИЕ РАЗВИТИЕ РАСТИТЕЛЬНО-МИКРОБНЫХ ПАТОСИСТЕМ

ABA and ABA-dependent plant responses as determining factors of plant-microbe pathosystem formation

Губаев Р.Ф.[1,2], Горшков В.Ю.[1,2], Петрова О.Е.[1], Даминова А.Г.[1], Гоголев Ю.В.[1]

[1] ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН, Казань, Россия; rimhuman@gmail.com; [2] ФГАУВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

Фитогормон абсцизовая кислота (АБК) регулирует множество физиологических процессов в растениях, в том числе, водный баланс и многие онтогенетические программы. В последнее время АБК-зависимой гормональной системе также отводится место регулятора взаимодействия растений с фитопатогенными микроорганизмами. Однозначного мнения о том служит ли АБК фактором устойчивости или восприимчивости растений к патогенной микрофлоре сформировать пока не удалось из-за противоречивых результатов, полученных на сегодняшний день. Существует предположение, что конкретная роль АБК-зависимой гормональной системы как компонента, детерминирующего растительно-микробные взаимодействия, зависит от таксономической принадлежности и физиологического статуса партнеров. Вирулентность патогенов рода *Pectobacterium* во многом определяется особенностями водного обмена, а так же рядом онтогенетических процессов растения-хозяина, которые, в свою очередь, контролируются АБК-зависимой гормональной системой. В связи с этим, нами была выдвинута рабочая гипотеза о том, что АБК и АБК-зависимые ответы растений (табак и картофель) определяют особенности их взаимодействия с пектобактериями. Для проверки этой гипотезы нами, во-первых, был проведен мониторинг работы АБК-зависимого пути в ходе инфекции, вызванной пектобактериями и, во-вторых, была проверена возможность влияния АБК на физиологические параметры бактериальных клеток в рамках так называемого растительно-микробного «кросс-тока».

Для мониторинга АБК-зависимого гормонального пути оценивали экспрессию генов-маркеров, подобранных исходя из следующих критериев: во-первых, ранее продемонстрированного АБК-индуцируемого характера экспрессии, во-вторых, наличия в промоторной области этих генов последовательностей ABRE (ABA-responsive elements), распознаваемых АБК-зависимыми факторами транскрипции. В качестве маркеров было выбрано семь генов, которые кодируют ферменты биосинтеза АБК, компоненты передачи АБК-сигнала, а также белки АБК-ответа. В ходе инфекционного процесса уровень экспрессии всех выбранных маркерных генов снижался. Это свидетельствует о том, что при интенсивной колонизации пектобактериями растения-хозяина происходит угнетение АБК-зависимой гормональной системы.

Для проверки возможности влияния АБК на физиологические параметры клеток пектобактерий были сопоставлены ростовые характеристики бактериальных культур, выращиваемых в присутствии и в отсутствии фитогормона, а также активность ключевых факторов вирулентности этих микроорганизмов – экстраклеточных пектатлиаз. Добавление АБК в бактериальные культуры в концентрациях 10-100 мкМ не влияло на рост микроорганизмов, но значительно снижало пектатлиазную активность, а так же уровень экспрессии генов, кодирующих пектатлиазы. С этим согласуется обнаруженное изменение баланса компонентов бактериальной регуляторной системы RsmA/*rsmB* в присутствии АБК. Эта регуляторная система состоит из белка RsmA, обеспечивающего деградацию матричных РНК ряда генов, в том числе пектатлиаз, и некодирующей РНК *rsmB*, инактивирущей RsmA. Добавление АБК приводило к увеличению соотношения транскриптов *rsmA*/*rsmB*, то есть сдвигало баланс в сторону негативного регулятора синтеза факторов вирулентности.

Для того чтобы выявить более широкий спектр генов-мишеней АБК в бактериальных клетках нами был произведен транскриптомный анализ с помощью методов высокопроизводительного секвенирования на платформе Illumina MiSeq. В результате этого были выявлены гены, уровень экспрессии которых менялся при добавлении АБК в бактериальную культуру. Проведенный анализ подтвердил негативное влияние АБК на вирулентность пектобактерий; среди АБК-репрессированных были, в частности, выявлены гены, кодирующие белки системы секреции третьего типа, которые являющимися важными факторами вирулентности, необходимыми на начальных этапах колонизации растений пектобактериями.

Полученные данные свидетельствует о том, что АБК-зависимая гормональная система участвует в формировании взаимоотношений между растениями и пектобактериями. В ходе инфекционного процесса происходит угнетение этой гормональной системы, что может приводить к снижению концентрации АБК в растениях и репрессии АБК-зависимых ответов. Это, в свою очередь, может способствовать более активной продукции факторов вирулентности пектобактериями, поскольку этот фитогормон негативно влияет на их синтез. Полученные данные согласуются с хорошо известным фактом: в засушливые периоды, когда содержание АБК в растениях увеличивается, инфекции, вызываемые пектобактериями, не развиваются, а проявление симптомов заболевания происходит только при высокой влажности почвы и воздуха.

Исследования проведены при частичной поддержке РНФ №15-14-10022, РФФИ № 14-04-01750-а и министерства образования и науки РФ №МК-7359.2015.4.

МОРОЗОСТОЙКОСТЬ НЕКОТОРЫХ ДЕКОРАТИВНЫХ КУСТАРНИКОВ И СУККУЛЕНТОВ В УСЛОВИЯХ ЮЖНОГО БЕРЕГА КРЫМА (ЮБК)

Frost resistance of some decorative shrubs and succulent in the conditions of the Southern Coast of Crimea

Губанова Т.Б, Браилко В.А.

Государственное бюджетное учереждение республики Крым им. Ордена Трудового Красного Знамени «Никитский ботанический сад-Национальный научный центр», Ялта, Россия; gubanova-t@rambler.ru

Проблема изучения эколого-физиологических особенностей декоративных растений актуальна для Крыма и других южных регионов, поскольку, с одной стороны, климат этих территорий позволяет использовать в зеленом строительстве раноцветущие и вечнозеленые виды, а с другой - характеризуется неравномерными осадками, частыми перепадами температур и наличием провокационных оттепелей в зимний период, что существенно ограничивает ассортимент растений, пригодных для круглогодичной экспозиции. В результате многолетних исследований морозо- и зимостойкости некоторых суккулентов из родов *Opuntia, Cylindropuntia*, *Sedum*, а также видов рода *Lonicera* выявлены наиболее устойчивые к неблагоприятным зимним условиям виды и определены их физиолого-биохимические особенности, функционально связанные с формированием морозостойкости. Высокая низкотемпературная устойчивость характерна для суккулентов *Sedum reflexum, Sedum alba, Sedum acre O.robusta*, *O. phaeacanta, O. lindchimeri, O. engelmanii, C. imbricata, C. molesta, C. leptocaulis* и декоративных кустарников *L.pileata* и *L. nitida*- вечнозеленые*; L. fragrantissima, L. henryi* – зимнезеленые*; L. tatarica, L. maackii* – листопадные.

Показано, что при нарастающем действии низкотемпературного фактора интенсифицируются процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) в тканях суккулентов. Однако, в тканях криорезистентных видов *O. engelmanii, C. molesta,* при прохождении первой и второй стадий закаливания увеличение концентрации продуктов ПОЛ значительно замедляется. Через 24 ч после снятия криостресса уровень ПОЛ у них практически не отличается от начального, что свидетельствует о высокой активности репарационных процессов. В результате анализа динамики накопления фенольных соединений в тканях суккулентов с контрастной степенью морозостойкости, установлено, что для устойчивых видов характерна относительно высокая концентрация фенольных соединений в начале холодного периода. У видов *Sedum* это в основном кверцитин и его производные, а у видов *Opuntia* и *Cylindropuntia* – ксантоны.

На основании экспериментов по влиянию закаливающих температур, провокационных оттепелей и избыточного увлажнения на зимостойкость суккулентов установлено, что провокационные оттепели, резкое снижение температуры воздуха отрицательно сказываются на зимостойкости суккулентов. Наличие условий, способствующих прохождению 1-й и 2-й стадий закаливания, увеличивает низкотемпературную устойчивость в большей мере у листовых суккулентов, по сравнению с стеблевыми.

Высокую чувствительность к провокационным оттепелям проявили такие виды стеблевых суккулентов как *O. leucotricha* и *O. microdasis.* При моделировании различных температурных режимов выявлено, что относительно высокая зимостойкость характерна для *O. engelmannii. O. lindhimtrii, C. leptocaulis, C. tunicata, S. reflexum, S. album, S. acre.* С нашей точки зрения, эти виды являются перспективными для использования в зеленом строительстве.

Установлено, что в условиях ЮБК морозостойкость жимолостей зависит как от основных биоморф, так и от биоморф по типу вегетации. В часности, у всех видов низкотемпературная устойчивость максимальна в январе, но у вечнозеленых она в среднем ниже на 5-7°С, чем у листопадных. У зимнезеленого вида *L. fragrantissima* наблюдалось снижение устойчивости к отрицательным температурам в 2-3 декадах января и незначительное ее повышение в феврале-марте, что вероятно связани с ранними сроками цветения этого вида. В начале холодного периода отмечено снижение общей оводненности тканей побегов у всех видов до уровню 40-58%. У видов с относительно высокой устойчивостью к отрицательным температурам этот процесс более выражен.

Для жимолостей лиан характерен относительно короткий биологический покой (*L. caprifolium, L. japonica)* по сравнению с кустарниками (*L. tatarica*, *L. maackii)*. Однако, их уровень морозостойкости сохраняется на достаточно высоком уровне и после выхода из состояния покоя, в то время как у кустарников отмечено резкое снижение низкотемпературной устойчивости на начальных этапах вегетации. Выявленные различия связаны с особенностями внутрипочечного развития: у лиан к началу вегетации генеративная сфера находится в недифференцированном состоянии, а у кустарников – полностью сформирована. Критическим периодом внутрипочечного развития, в отношении криорзистентности, у вечнозеленых и листопадных кустарников является этап формирования микроспор после выхода из состояния покоя, а у жимолостей-лиан - стадия дифференциации главной оси зачаточных цветов и зачаточных кроющих листьев, уплощение и обособление конуса наростания.

В результате модельных опытов показано, что действие закаливающих температур (близких к 0°С) благоприятно сказывается на устойчивости таких видов как *L. maackii, L. caprifolium.* Способность к повторному закаливанию (после провокационных оттепелей) характерна для видов *L. tatarica, L. maackii* и *L.pileata.*

АНАТОМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛИСТЬЕВ ДОМИНАНТНЫХ ВИДОВ НА ПОБЕРЕЖЬЕ БАРЕНЦЕВА МОРЯ

Anatomic description of leaves of dominant species on the Barents Sea coast

Гуляева Е.Н.[1], Морозова К.В.[1], Марковская Е.Ф.[1], Николаева Н.Н.[2], Запевалова Д.С.[2]

Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия; gln7408@gmail.com
2 Институт леса Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия

Литораль - это прибрежная зона, которая освобождается от воды во время отлива и заливается во время прилива. В этих условиях произрастают растения-галофиты, адаптированные к нестабильным условиям среды. Важным компонентом их приспособления является структурная адаптация тканей листа. Цель исследования - изучить анатомические особенности листьев доминантных видов галофитов подорожника морского *(Plantago maritima* L.), триостренника приморского *(Triglochin maritima* L.) и ложечницы арктической *(Cochlearia arctica* Schlecht. et DC) на побережье Баренцева моря.

Исследование проводилось в 2013-2015 гг. в Мурманской области в окрестностях поселка Дальние Зеленцы в приливно-отливной зоне на побережье Баренцева моря. Для проведения исследования использовали анатомический, биометрический и статистический методы. Анатомическую структуру листьев изучали на постоянных препаратах при помощи светового микроскопа с увеличением 40х и 100х. Измерения показателей проводили с помощью окуляр-микрометра с увеличением 100х в 30-кратной повторности. Для статистической обработки данных использовали программу Microsoft Excel. Диапазон изменчивости видов определяли с помощью коэффициента вариации (CV).

По результатам проведенного исследования листья подорожника морского амфистоматические с аномоцитным и диацитным устьичным аппаратом. Устьица овальные, хаотично расположенные. Определено, что количество устьиц на адаксальной стороне 205±34 шт. с низким значением CV (10%). На абаксальной стороне значение этого показателя составляет 138±30 шт. (CV 22%). Площадь устьиц, наоборот, на абаксальной стороне (789,03±90,41 мкм²) листьев больше, чем на адаксальной (607,43±62,39 мкм²) стороне. Коэффициент вариации этого показателя изменяется от 17 до 22%. Клетки верхней и нижней эпидермы изодиаметрические, по форме округлые, размеры клеток на нижней и верхней стороне достоверно не отличаются. Мезофилл изолатеральный, центральное место в листе занимает водозапасающая паренхима. Длина клеток губчатого мезофилла 30,05±5,27 мкм (CV 18%), ширина 28,70±11,75 мкм (CV 22%). Длина и ширина палисадного мезофилла составляют 62,14±10,27 и 32,01±7,86 мкм соответственно, CV составляет 16-24%.

Листья триостренника морского имеют центрическое строение и парацитный устьичный аппарат. Количество устьиц достигает 69±17 шт. на 1 мм² (CV 25%), площадь устьиц 1107,63±137,61 мм² (CV 12%). Устьица располагаются параллельными рядами на относительно равном расстоянии друг от друга. Эпидермальные клетки мелкие, овальные или округлые, имеют длину 19,63±3,31 мкм (CV 17%) и ширину 18,29±2,96 мкм (CV 16%). Длина и ширина клеток палисадного мезофилла составляют 55,0±5,65 и 30,05±5,27 мкм соответственно, коэффициент варьирования изменяется от 8 до 12%. Длина и ширина клеток губчатого мезофилла сходные (около 30 мкм), CV составляет 16-18%.

Листья ложечницы арктической дорзовентральные, гипостоматические с анизацитным, либо аномоцитным типом устьичного аппарата. Установлено, что количество устьиц на абаксиальной стороне 273±52 шт на 1 мм², коэффициент варьирования 19%. Площадь устьиц у этого вида составляет 664,17±141,95 мкм² с коэффициентом варьирования 20%. На адаксальной стороне листа устьица встречаться единично. Клетки эпидермы изодиаметрические. На нижней эпидерме клетки с округло-извилистыми стенками. Длина клеток 32,5±3,54 мкм (CV 11%), ширина 41,25±5,3 мкм (CV 13%). Клетки верхней эпидермы с округлыми очертаниями, в 1,5-2 раза крупнее клеток нижней эпидермы (длина 54,17^{+}4,38 мкм и ширина 76,67±9,45 мкм, CV 8% и 12% соответственно). Длина и ширина клеток палисадного мезофилла составляют 122,5±13,58 и 67,5±10,61 мкм, коэффициент варьирования изменяется от 10 до 15%. Длина и ширина клеток губчатого мезофилла сходные (около 75 мкм), CV составляет 8%.

Таким образом, в целом адаптация *Triglochin maritima* L. и *Plantago maritima* L. к засолению осуществляется путем усиления суккулентных черт в строение листа, это переход к мелкоклеточности, увеличению толщины листа за счет увеличения слоев мезофилла и перенос функции запасания воды от поверхностных структур к специализированной водной паренхиме, расположенной глубоко внутри листа, а также расположение устьиц на адаксальной и абаксальной сторонах листа. У *Cochlearia arctica* Schlecht. et DC таких адаптаций в строение листьев не наблюдалось.

ПЕРИФЕРИЧЕСКИЙ БЕЛОК PsbO МОДУЛИРУЕТ СКОРОСТЬ ОКИСЛЕНИЯ/ВОССТАНОВЛЕНИЯ ЭКЗОГЕННОГО КАТИОНА Mn, СВЯЗАННОГО С ВЫСОКОАФФИННЫМ Mn-СВЯЗЫВАЮЩИМ УЧАСТКОМ МЕМБРАННЫХ ПРЕПАРАТОВ ФОТОСИСТЕМЫ 2 БЕЗ МАРГАНЦА

The extrinsic PsbO protein modulates the oxidation/reduction rate of the exogenous Mn cation at the high-affinity Mn-binding site of Mn-depleted PSII membranes

Давлетшина Л.Н., Подковырина Т.Е., Тимофеев К.Н., Семин Б.К.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия; davlet@biophys.msu.ru

Индуцированное светом окисление экзогенных катионов марганца на высокоаффинном Mn-связывающем участке мембранных препаратов фотосистемы 2 без марганца [ФС2(-Mn)] было исследовано с помощью метода ЭПР, позволяющего контролировать концентрацию свободных катионов Mn(II). В экспериментах были использованы препараты ФС2(-Mn) двух типов: 1) препараты, содержащие Mn-стабилизирующий периферический белок PsbO (катионы марганца были экстрагированы из кислород-выделяющего комплекса (КВК) ФС2 гидроксиламином) и 2) препараты, не содержащие периферический белок PsbO (катионы марганца были экстрагированы из кислород-выделяющего комплекса ФС2 0,8 М Трис-буфером при pH 8,5). Мы обнаружили, что шестилинейчатый ЭПР спектр свободных катионов Mn(II) практически не изменяется при освещении препаратов ФС2(-Mn) (в присутствии экзогенного акцептора электронов 2,6-дихлорфенолиндофенола), содержащих белок PsbO, но исчезает при освещении препаратов без этого белка. Обнаруженный эффект, согласно полученым нами данным, обусловлен тем, что при освещении препаратов ФС2(-Mn) происходит не только окисление катионов Mn(II), но и быстрое восстановление катионов Mn(III), а периферический белок PsbO значительно изменяет соотношение скоростей окисления/восстановления катионов марганца. Полученные результаты могут представлять интерес при анализе механизма фотоактивации (процесс реконструкции каталитического центра Mn_4CaO_5 окисления воды КВК).

ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ АППАРАТ ЛИСТЬЕВ ВЫСШИХ ВОДНЫХ РАСТЕНИЙ ВОДОЕМОВ СРЕДНЕГО ТЕЧЕНИЯ БАССЕЙНА Р. ВЫЧЕГДА (РЕСПУБЛИКА КОМИ)

Leaf photosynthetic apparatus of higher aquatic plants from water reservoirs in the Middle Vychegda basin (Komi Republic)

Далькэ И.В., Дымова О.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Коми научного центра Российской академии наук, Сыктывкар, Россия; dalke@ib.komisc.ru

Высшие водные и прибрежно-водные растения играют важную роль в формировании растительного покрова умеренных широт, продукции органического вещества, регуляции газового состава водных экосистем. Проведены исследования растительности и видового состава макрофитов водоемов Республики Коми (РК) (Хантимер, 1964, Катанская, 1981, Вехов, Кулиев, 1986), современная гидрофильная флора региона насчитывает более 220 видов (Тетерюк, 2012). Функциональный подход в изучении макрофитов позволяет определить адаптационный потенциал растений и их индикационные свойства, оценить пригодность использования физиолого-биохимических признаков для классификации жизненных форм и экологических групп (Вейсберг, 2004). Параметры пигментного комплекса и CO_2-газообмена служат важными биоиндикаторами на изменяющиеся условия и могут быть использованы для диагностики фотосинтетической реакции листьев растений. Структурно-функциональные особенности фотосинтетического аппарата макрофитов связаны с разной степенью контакта листьев с водной средой и развитием экологической гетерофиллии (Ронжина, 2003).

Эколого-географический анализ показал, что гидрофильная флора водоемов в районе исследования (61°40 с. ш. 50°49 в. д.) насчитывает свыше 50 видов высших сосудистых растений. В широтном отношении основу флоры составляют бореальные (67%), в долготном – голарктические (50%) виды. По отношению к фактору увлажнения большинство видов относится к гигрофитам (35%) и гелофитам (30%). На долю собственно водных растений (плейстофитов и гидатофитов) приходится 20% (Новаковская, Дымова, 2012). Анализ пигментного комплекса 40 представителей гидрофильной флоры показал, что листья прибрежно-водных видов накапливали больше хлорофиллов (Хл) (до 17 мг/г сухой массы) и каротиноидов (Кар) (до 3.5 мг/г сухой массы), чем листья водных растений. Сравнение одних и тех же видов из разных водоемов выявило зависимость содержания и соотношения фотосинтетических пигментов в листьях водных и прибрежно-водных растений от состояния водной среды. В летний период (конец июля) у листьев 11 видов макрофитов определяли CO_2-газообмен в диапазоне падающей ФАР от 0 до 1800 мкмоль/м^{2}с и температуре листа 20°С. В этот период средняя температура воздуха составила 19°С, относительная влажность воздуха 71%. Листья прибрежно-водных видов (*Alisma plantago-aquatica*, *Calla palustris*, *Carex rostrata*, *Myosotys palustris*, надводные листья *Sium latifolium*) фотосинтезировали с максимальной скоростью 15±3 мг CO_2/ г сухой массы ч. Водные виды (*Ceratophyllum demersum*, *Elodea canadensis*, *Hydrocharis morsus-ranae, Numphar lutea)* и подводные листья *Sium latifolium* уступали прибрежно-водным видам по фотосинтетической способности в полтора раза. У погруженных в воду листьев величина светового компенсационного пункта CO_2-газообмена была ниже, и фотосинтез насыщался при меньшем освещении (150–400 мкмоль/м^{2}с ФАР), чем у надводных листьев (насыщение фотосинтеза выше 500 мкмоль/м^{2}с ФАР). У некоторых видов (*Numphar lutea*, *Sium latifolium*, *Hydrocharis morsus-ranae*) дальнейшее повышение освещения до 1800 мкмоль/м^{2}с ФАР приводило к заметному снижению скорости видимого фотосинтеза на 20–50% от максимального поглощения CO_2. У макрофитов разных экологических групп квантовый выход видимого фотосинтеза листьев составлял 0.03, а темновое дыхание листьев не превышало 13% от максимального видимого поглощения CO_2. Величина скорости фотосинтеза в расчете на содержание зеленых пигментов была практически равной для листьев с разной приуроченностью к водное среде и находилась в диапазоне 1.4 – 1.6 мг CO_2/г Хл ч. При этом, внутригрупповая вариабельность этого показателя была высокой, от 0.2 до 4 мг CO_2/г Хл ч. Зрелые ассимилирующие листья прибрежно-водных и водных макрофитов накапливали в среднем 0.5±0.1 г сухой массы на дм^2 листовой пластинки (диапазон от 0.2 до 1.3 г/дм^2).

Таким образом, впервые дана характеристика пигментного комплекса и параметров CO_2-газообмена представителей гидрофильной флоры водоемов окрестностей г.Сыктывкара. Установлено, что погруженные в воду листья изученных макрофитов содержали меньше зеленых пигментов, проявляли относительно низкую ассимиляционную способность, были хорошо адаптированы к низкому уровню освещения. Листья прибрежно-водных растений накапливали больше Хл и Кар, характеризовались более высокой скоростью CO_2-газообмена и устойчивостью к высокой инсоляции. Квантовый выход видимого фотосинтеза, дыхательные затраты в процессе ассимиляции CO_2 и накопление сухой массы листьев макрофитов разных экологических групп были сходными. Экологическая гетерофиллия (на примере *Sium latifolium*) способствует устойчивой работе ассимиляционного аппарата макрофитов на границе сред воды и воздуха.

ОСОБЕННОСТИ ПРИ ПОЛУЧЕНИИ ТРАНСПЛАСТОМНЫХ РАСТЕНИЙ ТАБАКА

Features of the obtaining of transplastomic tobacco plants

Данилова С.А.[1], Баранова Е.Н.[2]

[1] *Федеральное государственное бюджетное научное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева Российской Академии Наук, Москва, Россия*
[2] *Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии Россельхозакадемии, Москва, Россия; svdan@yandex.ru*

Методом баллистической трансформации были получены транспластомные растения табака *Nicotiana tabacum* cv. Petit Havana с экспрессией гена *aadA*^{au}, придающую устойчивость к спектиномицину и вызывающую золотистую окраску листа при высаживании в почву после отбора на селективной среде. Для выявление цитологических различий между фенотипическими и структурными параметрами пластид при использовании маркерного гена aadA^{au} , придающего золотистую окраску транспластомным растениям был произведен цитологический анализа ультраструктурной организации пластид клеток мезофилла листа методом электронной микроскопии.

Структура хлоропластов мезофилла сформированных листьев контрольных растений (дикого типа) соответствовала ортодоксальной структуре, характерной для хлоропластов мезофилла настоящих листьев табака. Хлоропласты мезофилла фрагмента золотистой части листа гетеропластомного растения табака имели существенные отличия от пластид контрольных растений. Размеры пластид были уменьшены в 1,5–2 раза. Кроме того, отличия выражались в уменьшении количества тилакоидов в гранах до 2-5, увеличении количества светлых участков стромы, характерных для расположения нуклеоидов, Еще одним отличием было неравномерные отложения осмиофильного материала в межмембранном пространстве по поверхности хлоропласта.

Изменения в структурной организации пластид ранее были отмечены и при получении трансгенных растений, у которых трансформации подвергается ядерный геном, при этом такие изменения могут происходить как при использовании сигнальной последовательности таргетирующей в пластиду, так и без нее. По этой причине само по себе изменение ультраструктуры пластид может иметь различные последствия и быть частично нивелировано за счет увеличения их количества в клетке или за счет изменения работы различных систем обеспечивающих работу обеих фотосистем.

В заключение, следует добавить, что в связи с выявленными изменениями фотосинтетического аппарата пластид при пластидной трансформации в нашем случае, применения маркера aadA^{au} , требуют дальнейшего изучения, принимая во внимание надежность и перспективность использования пластидной трансформации.

Работа выполнена при финансовой поддержке фонда РФФИ 13-08-01323 а.

ЭКОЛОГО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ИНТРОДУКЦИИ РАСТЕНИЙ РОДА *AMARANTHUS L.* В РЕСПУБЛИКЕ ТАТАРСТАН

Ecologo-physiological particularities of introduction of *Amaranthus* L. in the Republic of Tatarstan

Дегтярева И.А.[1], Гасимова Г.А.[2]

[1]*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Татарский научно-исследовательский институт агрохимии и почвоведения», Казань, Россия; niiaxp2@mail.ru*

[2] *Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана, Казань, Россия gulshat.gasimova @mail.ru*

Особую ценность представляют сельскохозяйственные культуры, обладающие генетически детерминированной способностью к интенсивному накоплению большого количества фитомассы (за вегетацию до 150 т/га) с высоким содержанием легкоусваивающегося высоколизинового белка (в листьях до 58%)в связи с тем, что острый дефицит растительного белка в рационах питания людей и кормления животных не удается устранить за счет традиционных культур. К числу таких высокобелковых и продуктивных культур отнесены культивируемые виды амаранта, одним из достоинств которых является то, что они значительно слабее поражаются болезнями и вредителями.

Цель данной работы – изучение эколого-физиологических особенностей интродукции амарантовых в Республике Татарстан.

Для оптимальной реализации потенциала продуктивности амарантовых необходимо обеспечить взаимодействие корневой системы растений и сообщества ризосферных диазотрофов. Проведена оценка коллекции видообразцов, относящихся к 16 видам рода *Amaranthus L. (A. cruentus L.* (2 видообразца), *A. caudatus* (2), *A. hypochondriacus L.* (7), *A. Mantegazzianus* (2), *A. paniculatus* (5), *A. hybridus L.* (3), *A. viridis L.*, *A. guitensis*, *A. mangostanos*, *A. crispus*, *A. dubius L.*, *A. albus L.*, *A. spinosus*, *A. aureus* и *A. retroflexus* – по 1 видообразцу, *A. sp.* – 10 видообразцов) по их способности фиксировать молекулярный азот в ассоциации с микроорганизмами. В корневой зоне изучаемых растений наблюдали изменение нитрогеназной активности (в мкг N_2/кг×ч) – в вегетативной фазе до 130, в фазе бутонизации – до 278, в фазе цветения – до 742, в фазе плодоношения – до 638, в то время как активность азотфиксации в образцах почвы без растений имела низкие показатели – до 33. Установлено, что растения родового комплекса *Amaranthus* L. с C_4-типом фотосинтеза обеспечивают активное развитие диазотрофов.

Уменьшить дозу вносимых минеральных удобрений до 25% и значительно снизить содержание нитратов в растениях позволяет разработанная нами рациональная агротехника возделывания амаранта, которая предусматривает предпосевную инокуляцию семян высокоактивными штаммами азотфиксаторов, выделенными из его ризосферы. Положительный эффект дает рыхление корнеобитаемого слоя почвы, позволяющее интенсифицировать газообмен почвенного и атмосферного воздуха. Это необходимо для оптимального дыхания клеток корня и диазотрофов, вследствие этого усиливается фиксация молекулярного азота, образование его подвижных форм, транспорт по растению и использование в биосинтезе белка.

Функционирование корневой системы амаранта и жизнедеятельность диазотрофов во многом регулируются величиной pH почвенного раствора (оптимум колеблется в пределах 6,0-7,6), что свидетельствует о синхронизации потребностей корневой системы амаранта и популяции корневых азотфиксаторов, обеспечивающих высокую продуктивность растений и эффективный биосинтез белка в листьях амаранта.

Исследована специфика фотосинтетической метаболизации углерода в листьях амаранта, уже на ранних этапах ведущая к образованию оксалоацетата и аспартата, а затем критически дефицитных незаменимых аминокислот: лизина, метионина, изолейцина и других. Этот путь метаболизации CO_2 дает преимущество амаранту не только в значительном образовании протеиногенных аминокислот, но и в том, что химизм превращений первичных продуктов ассимиляции обеспечивается действием высокоэффективного CO_2-концентрирующего механизма, лежащего в основе исключительно высокой продуктивности растений с аспартатным вариантом C_4-типа фотосинтеза.

Полученные результаты способствуют более полному пониманию особенностей химического состава фитомассы амаранта, причин его высокой продуктивности при возделывании в малоблагоприятных природно-климатических условиях и значительной толерантности к действию высоких температур, недостатку влаги и малой обеспеченности почвы азотом, что позволяет рассматривать амарант как перспективную во многих отношениях культуру при интродукции до 58° с.ш.

ЭФФЕКТ КОРНЕВЫХ ВЫДЕЛЕНИЙ ЛЮПИНА УЗКОЛИСТНОГО *(LUPINUS ANGUSTIFOLIUS)* НА ПРОРОСТКИ ОВОЩНЫХ КУЛЬТУР

The effect of root exudates from blue lupine (*Lupinus angustifolius)* on seedlings of vegetable crops

Демина О.С., Агеева П.А., Кондратьев М.Н.

Федеральное государственное образовательное учреждение высшего образования Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева», Москва, Россия
scorpy08@mail.ru

Выделение веществ корнями, наряду с выделением их через надземные органы, представляет одно из звеньев общего обмена веществ, присущего всем живым организмам, так как поглощение и усвоение ими веществ не может происходить без выделения тех или иных продуктов во внешнюю среду. Следовательно, выделение веществ корнями растений следует рассматривать как проявление одной из их нормальных физиологических функций, которая может изменяться от воздействия ряда внешних и внутренних условий и факторов. Поэтому выделительная функция, подобно другим физиологическим процессам, свойственным растениям, является отражением процессов метаболизма, происходящих, прежде всего, в корнях растений.

Каждая особь фитоценоза, выделяя во внешнюю среду различные продукты метаболизма, создает вокруг себя специфическую среду, которая для рядом произрастающих растений может быть токсичной, благоприятной или индифферентной. Особое внимание исследователи уделяют видам, корневые выделения которых оказывают негативное действие на другие виды в естественных и агрофитоценозах. Из культурных растений таким свойством обладают корневые выделения люпина, подсолнечника, сорго.

В нашем исследовании за основу был взят метод биотестов, а в качестве растений-мишеней использовались прорастающие семена и проростки кресс-салата и огурца. Корневые выделения получались при выращивании люпина узколистного сорта Радужный (сидеральный) в стеклянных воронках, заполненных прокаленным кварцевым песком, и сорта Кристалл, выращенного в водной культуре. Водный раствор, содержащий корневые выделения, использовали для обработки семян овощных культур. Семена тест-культур проращивались в чашках Петри (по 100 штук кресс салата, по 50 – огурца) на фильтровальной бумаге, смоченной водным раствором корневых выделений растений люпина. В контрольном варианте семена тест-культур проращивались на фильтровальной бумаге, смоченной дистиллированной водой. Повторность в каждом варианте не менее четырех. При оценке влияния растворов корневых выделений определяли лабораторную всхожесть и морфологические показатели 7-дневных проростков кресс-салата и огурца.

Корневые выделения люпина узколистного «Кристалл», полученные в водной культуре, оказали ингибирующее действие на прорастание семян огурца «Конкурент». При проращивании семян огурца в растворе корневых выделений корни проростков были в 3 раза короче контрольных. Однако в вариантах, где обработка проводилась на 3 и 4 день роста, длина побеговой части проростков опытного варианта превосходила контрольные растения на 410%, корней – на 280%. На 5-6-дневные проростки огурца водные растворы корневых выделений люпина эффекта не оказывали. Сходные результаты найдены с использованием корневых выделений, полученных методом выращивания люпина в стеклянных воронках, заполненных кварцевым песком. При проращивании семян кресс-салата (с. Витаминный) в водном растворе корневых выделений рост корней ингибировался на 12%, а побеговой части – на 8%. Но в варианте опыта, где исследуемый раствор использовался на 3-дневных всходах, рост корней и побеговой части активизировался: корней – на 30%, побегов – на 15% по сравнению с растениями контрольного варианта.

Данное исследование показывает, что в корневых выделениях люпина узколистного содержатся физиологически активные вещества, которые могут оказывать эффект на другие растения. Однако ответные реакции тестируемых растений зависели от их вида и возраста. Кроме этого, не исключено, что состав корневых выделений люпина узколистного изменяется в онтогенезе.

Плотность фитоценоза и видовое разнообразие могут по разному влиять на чувствительность видов к выделяемым аллелохимикалиям. В этой связи значение относительной плотности между аллелопатическими растениями и растениями-мишенями должно быть тщательно изучено.

НАЧАЛЬНЫЕ ЭТАПЫ ИНИЦИАЦИИ БОКОВОГО КОРНЯ В МЕРИСТЕМЕ РОДИТЕЛЬСКОГО КОРНЯ У ТЫКВЕННЫХ, ИХ ГОРМОНАЛЬНЫЙ КОНТРОЛЬ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ

The first steps of lateral root initiation in a parental meristem of *Cucurbitaceae*: hormonal control and genetic regulation

Демченко К.Н., Ильина Е.Л., Кирюшкин А.С., Семенова В.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия; demchenko@binran.ru

Формирование боковых корней непосредственно в меристеме родительского корня у некоторых семейств Двудольных, таких как Тыквенные (Cucurbitaceae) и Гречишные (Polygonaceae), было описано сравнительно давно (Гуляев, *Ботанический Журнал,* 1964; O`Dell, Foard, *Bul. Torrey Bot. Club*, 1969; Mallory et al., *Amer. J. Bot.,* 1970; Дубровский, *Ботанический Журнал*, 1987; Демченко и др. *Ботанический Журнал*, 2001; Demchenko, *Recent advances of plant root structure and function*, 2001). Однако, в литературе до сих пор нет достоверной информации ни о самых ранних событиях приводящих к инициации примордиев, ни о молекулярно-генетических и гормональных механизмах этого процесса. В данном докладе представлены новые данные о самых ранних событиях инициации бокового корня у кабачка *Cucurbita pepo* L., а также физиологических и генетических механизмах формирования нового органа в системе активно пролиферирующих клеток.

Для визуализации клеточного ответа на ауксин была создана новая генетическая конструкция 242pKGW-RR-MGW-DR5::GFP-GUS, в которой слитый репортерный ген GFP-GUS содержит сигнал ядерной локализации NLS. По разработанной нами ранее методике (Ilina et al., *Annals of Botany*, 2012), получены трансгенные композитные растения кабачка несущие DR5::GFP-GUS-NLS. Ядерная локализация репортерного белка позволила точно оценить пространственное распределение ответа на ауксин по сравнению с цитоплазматической локализацией GFP или β-глюкуронидазы (Ilina et al., *Annals of Botany*, 2012). Локализация первых событий инициации бокового корня проводилась на продольных срезах корней (60 мкм) путем 3D реконструкции серии оптических срезов с использованием лазерного сканирующего конфокального микроскопа LSM780 (Zeiss, Германия). Выявление клеточного ответа на ауксин проводилось по накоплению зеленого флуоресцентного белка GFP в ядрах клеток или цитоплазме делящихся клеток. Нами убедительно показано, что клеточный ответ на ауксин формируется непосредственно перед первым антиклинальным делением клеток, инициирующих формирование примордия в данной модельной системе – внутреннего и наружного слоев перицикла, а также эндодермы. Эти события происходят на удалении 250-300 мкм от инициальных клеток ряда. По периметру этих слоев принимают участие два-три продольных ряда перицикла и один ряд эндодермы. Впоследствии, число рядов эндодермы увеличивается до трех и происходит вовлечение рядов внутренней коры материнского корня. Примечательно, что на последующих стадиях развития примордия только часть активно пролиферирующих клеток сохраняет клеточный ответ на ауксин. Клетки на периферии примордия быстро теряют максимум ауксина. В докладе будут продемонстрированы объемные реконструкции самых первых событий инициации бокового корня в меристеме родительского корня и последующие этапы формирования примордия бокового корня.

Кроме того, нами проведены дополнительные эксперименты по поиску физиологических триггеров инициации бокового корня у Тыквенных. Проростки кабачка выращивались на гидропонной культуре 4 суток в присутствии одного их факторов: индолилуксусная кислота 1 нМ, 10 нМ, 100 нМ; фенилуксусная кислота – 0,1 нМ, 1 нМ, 10 нМ, 100 нМ; нафтилуксусная кислота от 1нМ до 25 нМ; индолилмасляная кислота 1 нМ до 100 нМ; блокаторы активного транспорта ауксина нафтоксиуксусная кислота – 25 мкМ и 50 мкМ, трийодбензойная кислота – 1 мкМ, 10 мкМ, нафтилфталамовая кислота – 0,1 мкМ, 1 мкМ, тиосульфат серебра – 0,001 мМ, 0,02 мМ и 0,2 мМ; 1-аминоциклопропан-1-карбоновая кислота – 1 нМ, 10 нМ, 100 нМ. Данные показали отсутствие влияния различных форм экзогенного ауксина и блокаторов его активного транспорта, а также регуляторов этиленового сигналинга на общее число формируемых боковых корней в данной модельной системе и, как следствие этого, на процессы инициации примордиев бокового корня.

Наши результаты показывают, что у Тыквенных локальное повышение клеточного ответа на ауксин происходит не для определения места инициации бокового корня и поддержания пролиферативной активности в примордии, а лишь для определения вектора развития примордия и формирования архитектуры будущего корня.

Кроме того, в докладе будет продемонстрировано и обсуждено пространственное распределение экспрессии (активности промоторов) отдельных меристем-специфичных генов в кончике корня кабачка и проведен анализ их участия в процессах инициации бокового корня. Особое внимание будет уделено WOX5 (меристем-специфичный транскрипционный фактор), SCR (генетический маркер эндодермы), CR4 (рецептор-подобная киназа, регулятор пролиферации клеток) и ALF4 (Aberrant Lateral Root Formation 4, регулятор ауксин-независимого сигналинга инициации бокового корня).

Экспериментальные исследования поддержаны грантом РФФИ 14-04-01413-а.

МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ГЕН ИНВЕРТАЗЫ ДРОЖЖЕЙ, СПОСОБСТВУЮЩИЕ ПОВЫШЕНИЮ ИХ УСТОЙЧИВОСТИ К ГИПОТЕРМИИ

Morphometric, physiological and biochemical features of potato plants expressing the yeast invertase gene, promoting increase stability to hypothermia

Дерябин А.Н., Бураханова Е.А., Астахова Н.В., Трунова Т.И.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; anderyabin@mail.ru

Инвертаза клеточных стенок (апопластная инвертаза) является ключевым ферментом углеводного метаболизма, задействованным в разгрузке флоэмы, контроле дифференциации клеток и уровня сахарозы в свободном клеточном пространстве, а также транспорта сахарозы через плазмалемму. У растений картофеля именно апопластной инвертазе принадлежит координация донорно-акцепторных связей между главными фотосинтетическими (листья) и акцепторными органами – клубнями. Применение трансформантов, экспрессирующих гены гетерологичных организмов, расширяет наши представления о роли продуктов этих генов в процессах роста и развития растений, а также в формировании ими устойчивости к стресс-факторам различной природы. В данной работе были изучены морфофизиологические и биохимические особенности трансгенных растений картофеля, конститутивно экспрессирующих ген инвертазы *Saccharomyces cerevisiae* (апопластный вариант локализации фермента), способствующие повышению их устойчивости к гипотермии.

Объектом исследования служили нетрансформированные растения картофеля (*Solanum tuberosum* L.) среднеспелого сорта Дезире (далее WT-растения) и созданная на их основе линия с измененным углеводным метаболизмом, вызванным интеграцией в геном целевого гена *suc2*, кодирующего инвертазу (β-фруктофуранозидаза, КФ 3.2.1.26) дрожжей *S. cerevisiae* под контролем *B33*-промотора гена пататина класса I. Растения были отобраны из коллекции клонов картофеля, полученных в результате совместной работы сотрудников Лаборатории сигнальных систем контроля онтогенеза им. акад. М.Х. Чайлахяна ИФР РАН и группы доктора Л. Виллмитцера из Max Planck Institute of Molecular Plant Physiology (Potsdam-Golm, Germany). Растения размножали методом черенкования на стеблевые черенки с одной пазушной почкой и выращивали в пробирках, уплотненных ватно-марлевыми пробками, при 22°С и 16-часовом световом дне. Для размножения растений использовали агаризованную МС-среду, дополненную 2% сахарозы. С помощью различных молекулярно-генетических и биохимических методов нами была подтверждена встройка полной последовательности переносимого трансгена в геномную ДНК трансформантов. При этом гетерологичный целевой ген *suc2* активно экспрессировался в геноме трансгенных растений, а синтезируемый им белок инвертазы *S. cerevisiae* с присоединенным к его *N*-концу лидерным пептидом ингибитора протеиназы II картофеля экспортировался из клетки в апопласт, где слабо адсорбировался на клеточной стенке.

Хроматографический анализ выявил преобладание в мезофилле исследуемых линий растений следующих форм низкомолекулярных растворимых сахаров: метаболически активных – глюкозы и фруктозы, а также сахарозы. Изменения в активности только одного фермента углеводного метаболизма – апопластной инвертазы – привели к существенной перестройке всего метаболизма трансгенных растений. Результатом конститутивной экспрессии гена *suc2* явилась повышенная активность апопластной инвертазы в вегетативных органах (корни, листья), а также более активное накопление сахаров в межклеточном пространстве – апопласте (фруктозы и глюкозы), листьях (глюкозы и сахарозы), и особенно, в корнях (глюкозы). Установлен ростингибирующий эффект повышенной концентрации внутриклеточных сахаров, проявившийся в снижении у трансгенных растений величин морфофизиологических показателей, как линейных, так и весовых (бóльшая обводненность тканей, менее развитая корневая система, меньшая масса надземной части и др.). В результате экспрессии гена *suc2* в листьях трансгенных растений, по сравнению с WT-растениями, уменьшилось число и размер структурных элементов хлоропластов (крахмальных зерен, гран, тилакоидов), что согласуется с их отставанием в росте и снижением скорости фотосинтеза. При этом листья трансгенных растений содержали на 60% больше Хл *b* и на 40% меньше каротиноидов. Установленные морфофизиологические и биохимические особенности трансгенных растений картофеля способствовали повышению их устойчивости к гипотермии.

РОЛЬ ХЛОРОФИЛЛА *b* И СТАБИЛИЗАЦИИ ПИГМЕНТ-БЕЛКОВЫХ КОМПЛЕКСОВ ХЛОРОПЛАСТОВ В РЕГУЛЯЦИИ ОНТОГЕНЕЗА *HORDEUM VULGARE* И *ARABIDOPSIS THALIANA*

Дмитриева В.А.[1,2], Тютерева Е.В.[1], Войцеховская О.В.[1]

[1] *Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург, Россия; tuterlena@mail.ru*
[2] *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*

Репродуктивный успех растения во многом зависит от выбора благоприятного времени для перехода к цветению и момента вступления в сенильную фазу развития. Длительность и интенсивность света являются важнейшими регуляторами онтогенетических межфазных переходов высших растений. В недавних работах было показано, что действие светового фактора среды на растения опосредуется стабильностью пигмент-белковых комплексов (ПБК) тилакоидной мембраны, поскольку продукты деградации последних, возникающие при избытке света, могут выступать в роли стрессовых сигналов, тормозящих цветение и провоцирующих старение растений. Один из компонентов ПБК – хлорофилл *b* (Nakagawara et al., 2007) – играет ключевую роль в поддержании структуры и функции антенны высших растений. Ранее на мутантах *chlorina* арабидопсиса и ячменя с заблокированным синтезом хлорофилла *b* было показано, что дефицит этого пигмента приводит к протеолитическому гидролизу белков главной ССК, нарушениям стехиометрии антенны и коровых частей фотосистем и изменениям организации тилакоидной системы хлоропластов. Можно ожидать, что эти изменения с участием хлоропластного ретроградного сигналинга будут приводить к репрограммированию развития как клеток, так и целого растения (Sakuraba et al., 2010; Sakuraba et al., 2014). В данной работе это предположение проверяется на двух моделях – представителях двудольных и однодольных растений, ПБК которых дестабилизированы отсутствием хлорофилла *b*: мутантах *chlorina* ячменя (*chlorina* f2^{3613}; Mueller et al., 2012) и арабидопсиса (*ch*-1; Espineda et al., 1999). Цель работы состояла в изучении у этих модельных объектов взаимосвязи между стабильностью пигмент-белковых комплексов тилакоидной мембраны и регуляцией поздних фаз онтогенеза. В листьях были изучены белковый состав и ассоциации нативных комплексов ФС2, уровни продукции $^1O_2$, уровни экспрессии генов-маркеров окислительного стресса, а также генов-маркеров перехода в цветение и развития физиологического старения. Успешное прохождение растениями точки перехода к цветению контролировалось по морфологической трансформации апексов побегов. Полученные данные свидетельствуют в пользу тесной взаимосвязи гиперчувствительности растений *chlorina* к действию светового стресса (одним из симптомов которой является низкая стабильность ПБК) и нарушениями у них онтогенетической регуляции. Симптомами этих нарушений являются задержка перехода к цветению и раннее старение растений. В докладе будут представлены результаты сравнительного анализа у мутантов *chlorina* двух видов старения: старения, инициируемого затенением и естественного онтогенетического старения. Будут обсуждаться анатомические, биохимические и молекулярно-генетические данные, свидетельствующие в пользу гипотезы о регуляторной роли уровня хлорофилла *b* и стабильности ПБК хлоропластов в онтогенетической регуляции.

Исследование состава и функций тилакоидной мембраны, а также сравнительной экспрессии генов растений поддержано РНФ (№14-16-00120). Использовалось оборудование ЦКП БИН РАН, и Ресурсного центра «Развитие молекулярных и клеточных технологий» СПбГУ. Исследования морфологических изменений выполнены в рамках госзадания №01201255613.

ОЦЕНКА СТАБИЛЬНОСТИ РАЗВИТИЯ СОСНОВЫХ ДРЕВОСТОЕВ ПО ПОКАЗАТЕЛЯМ МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКОГО СТРОЕНИЯ ХВОИ

Assessment of the development stability of pine stands by morphological and anatomical parameters of needle

Днепровский И.А., Скрипальщикова Л.Н., Стасова В.В., Пляшечник М.А.

Институт леса им. В. Н. Сукачева СО РАН, Красноярск, Россия; lara@ksc.krasn.ru

В настоящее время, в условиях возрастающего антропогенного воздействия на лесные экосистемы, актуальна проблема их экологического равновесия, устойчивости. При постоянном увеличении уровня антропогенных нагрузок, исследование специфической реакции лесов в техногенно-нарушенных ландшафтах приобрело особую значимость. Леса зеленых зон вокруг крупных промышленных городов выполняют важные средообразующие и санитарно-гигиенические функции. Для оценки стабильности развития древостоев в зеленых зонах, произрастающих под постоянным техногенным прессом, наиболее часто пользуются морфологическими характеристиками органов ассимиляционного аппарата. Главными показателями изменений гомеостаза, с морфологической точки зрения, являются показатели флуктуирующей асимметрии. Под флуктуирующей асимметрией (ФА) понимается случайное небольшое отклонение от симметрии по любому признаку двусторонне симметричного организма (органа) (Захаров, 1987).

Целью данного исследования являлось изучение изменений морфолого-анатомических характеристик, а также флуктуирующей асимметрии хвои сосновых древостоев, произрастающих под влиянием выбросов алюминиевого завода и тепловых станций г. Красноярска. В связи с поставленной целью выполнялись следующие задачи:

- Измерение морфологических и анатомических показателей хвои;
- Выявление взаимосвязей между интегральными показателями ФА хвои сосны обыкновенной и уровнями загрязнения мест произрастания исследуемых сосновых насаждений;
- Определение содержания фтора, алюминия и тяжелых металлов в хвое сосны обыкновенной.

Исследования проводились в 2013-2014 годах, в сосновых насаждениях разнотравного типа леса, V-VI классов возраста, продуцирующих в окрестностях г. Красноярска в зоне основного ветрового переноса токсичных аэрозолей и техногенной пыли, а также интенсивно использующихся в целях рекреации. Работы проводились на 5 мониторинговых пробных площадях в градиенте загрязнения. Фоновым объектом был выбран сосняк разнотравный, в 100 км от города, вне основного переноса выбросов промышленности города.

На каждой пробной площади, с 5 модельных деревьев были отобраны ветки из нижней части кроны, с которых собирали по 20 пар хвоинок второго года. Измеряли длину, ширину и толщину хвои по парам, а также площадь поперечного сечения среза каждой хвоинки, площадь центрального цилиндра, площади проводящих пучков, количество смоляных ходов. Показатели ФА хвои рассчитывали по методике (Palmer, Strobeck, 1986). Содержание тяжелых металлов и алюминия в хвое было определено на атомно-адсорбционном спектрометре МГА-915МД.

В результате исследований установлено, что сосновые насаждения характеризуются высокими техногенными нагрузками. Так, за летний период под полог насаждений проникает в среднем от 1 до 5 т/га техногенной пыли. Техногенная пыль содержит высокие концентрации фтора, алюминия и тяжелых металлов.

В древостоях подвергающихся интенсивным техногенным нагрузкам и рекреации было отмечено снижение всех морфологических показателей, кроме размеров проводящих пучков в сравнении с фоновым объектом. Следует отметить такой анатомический показатель как количество смоляных ходов. Так, число смоляных ходов уменьшается в хвое сосен по мере приближения к источнику загрязнения.

Показано, что индекс ФА длины хвои повышается с увеличением техногенного влияния, что указывает на нарушение стабильности развития этих насаждений.

Повышенные концентрации алюминия в хвое отрицательно влияет на развитие транспортных путей растения. Было выявлено уменьшение площади проводящих тканей хвои (центрального цилиндра) при увеличении содержания алюминия в хвое. Коэффициент корреляции составляет r =0,68, что свидетельствует о значительной связи этих показателей.

Таким образом исследования проведенные в 2013-2014 годах показали, что стабильность развития сосновых древостоев в зоне влияния КрАЗа и ТЭЦ-3 нарушена. Увеличение техногенных нагрузок может привести к уменьшению их средообразующего потенциала и деградации.

ЛАТЕРАЛЬНЫЕ МЕРИСТЕМЫ: ИСТОЧНИК НОВОГО В ОРГАНИЗМЕ РАСТЕНИЯ

Додуева И.Е., Ганчева М.С., Лебедева М.А., Лутова Л.А.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; Wildtype@yandex.ru

Латеральные меристемы (ЛМ) располагаются параллельно латеральной поверхности того органа, в котором они находятся; в осевых органах высших растений - стеблях и корнях - ЛМ на поперечных срезах имеют вид колец. Одной из основных функций ЛМ является обеспечение роста осевых органов растений в толщину (вторичного утолщения). Первичные ЛМ (перицикл и прокамбий) возникают в ходе эмбриогенеза, вторичные (камбий, феллоген) формируются в постэмбриональном развитии из первичных ЛМ, либо образуются из существующих тканей в процессе их дедифференциации. Перицикл представляет собой плюрипотентную ткань, которая может дать начало разнообразным типам меристем в разных условиях развития; прокамбий и камбий обеспечивают дифференцировку проводящих тканей. К числу основных регуляторов развития ЛМ относят несколько групп фитогормонов, в частности – цитокинины, ауксины и CLE-пептиды. В ЛМ, так же, как и в АМ, гормоны работают в тесном взаимодействии с определенными группами меристем-специфичныхтранскрипционных факторов (ТФ): WOX и KNOX, которые контролируют поддержание и пролиферацию стволовых клеток, а также ТФразных групп, регулирующими дифференцировку специализированных типов клеток. Регуляция развития ЛМ имеет ряд сходных черт с развитием апикальных меристем (АМ)- например, участие систем WOX-CLAVATA и ТФ KNOXв контроле активности тех и других, а также ряд уникальных особенностей - например, ведущая роль ориентации клеточных делений в правильном развитии ЛМ, позитивная регуляция ЛМ CLE-пептидами, наличие ТФ, специфично регулирующих развитие только ЛМ. Тем не менее, контроль развития ЛМ, по сравнению с АМ, изучен гораздо хуже. В число «белых пятен» в изучении механизмов развития ЛМ входят, в частности, вопросы о наличии или отсутствии у них организующих центров; о взаимодействии разных групп фитогормонов в контроле пролиферации и дифференцировки клеток ЛМ, о коммуникациях между АМ и ЛМ и т.д.

Исследования генетики развития ЛМ и их производных на кафедре генетики и биотехнологии СПбГУ поддержаны грантами РФФИ 14-04-00591, 15-34-20071, 15-29-02737и грантами СПбГУ 1.38.229.2014, 1.38.676.2013.

ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ ГЕТЕРОГЕННОСТИ КУЛЬТУР КЛЕТОК *ZEA MAYS* И *ARABIDOPSIS THALIANA* ПОД ДЕЙСТВИЕМ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ФАКТОРОВ

Alteration of heterogeneity level of *Zea mays* and *Arabidopsis thaliana* cultured cells under unfavorable conditions

Долгих Ю.И., Соловьева А.И., Терешонок Д.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; gsc@ippras.ru

Растения на протяжении онтогенеза подвергаются действию различных неблагоприятных факторов, которые могут вызывать состояние стресса. Стрессовые факторы нарушают работу регуляторных и репарационных систем растений, индуцируют изменения экспрессии генов, вызывают структурную реорганизацию ДНК. Все это может служить косвенной причиной мутаций.

Удобной моделью для изучения стресс-индуцированной изменчивости является культура клеток *in vitro*, так как действие на нее стрессовых факторов не опосредовано регуляторными системами целого растения, возможно поддержание стандартных условий культивирования, нет зависимости от сезона. Проблема возникновения мутаций под действием стрессоров имеет для культивируемых *in vitro* клеток самостоятельное значение. На протяжении выращивания они могут подвергаться из-за сбоев оборудования колебаниям температуры, гипоксии, окислительному стрессу. Поэтому в случае культур-продуцентов биологически активных веществ или при клональном микроразмножении, когда необходимо сохранение стабильности генома, очень важно оценить степень риска появления мутаций при нарушении условий культивирования.

Целью работы было изучение влияния стрессовых факторов на уровень изменчивости генома культивируемых клеток *Zea mays* и *Arabidopsis thaliana*. Были поставлены задачи определить: изменяется ли уровень генетической гетерогенности культивируемых тканей в стрессовых условиях; влияют ли на этот процесс генотип и возраст культур; зависит ли эффект от силы стресса.

Анализировали вариабельность ДНК-маркеров, полученных в ходе полимеразной цепной реакции с RAPD-, ISSR- и AFLP-праймерами, в стандартных условиях выращивания и после дополнительных воздействий, в качестве которых выступали культивирование на среде с ионами меди, инкубация при повышенной температуре и в условиях аноксии. Были выбраны такие силы воздействия, которые вызывали уменьшение постстрессового прироста в два раза.

У кукурузы анализировали две каллусные линии, из которых одну (ARm15) культивировали *in vitro* до момента исследования 6 месяцев, а вторую (ARm22) – два года. При культивировании в стандартных условиях клетки кукурузы характеризовались высоким уровнем вариабельности RAPD- и ISSR-маркеров: доля полиморфных фрагментов ДНК составила 13,3% для линии ARm15 и 15,0% для линии ARm22. Под влиянием стрессовых факторов не выявлено появления новых изменений ДНК-маркеров. Наоборот, наблюдали уменьшение генетического разнообразия, вероятно, вследствие отбора наиболее жизнеспособных в условиях стресса клеток. Снижение уровня генетической изменчивости происходило в клеточных линях разного возраста сходным образом. На примере действия ионов меди исследовали влияние силы стрессового фактора (0,2 – 0,8 М $CuSO_4$) на генетическую изменчивость. Во всех вариантах показано существенное снижение доли полиморфных фрагментов, сильнее оно было выражено при концентрации ионов меди 0,6 М. При дальнейшем культивировании подвергнутых действию стрессоров клеток в стандартных условиях постепенно восстанавливался исходный уровень гетерогенности популяции.

Уровень генетической изменчивости *A. thaliana* определяли также в двух линиях, которые культивировали in vitro 6 месяцев и 7 лет. В стандартных условиях культивируемые клетки *A. thaliana* характеризовались низким уровнем генетической изменчивости. Доля полиморфных ампликонов составила менее 1% для шестимесячного (линия АТ-н) и около 5% для длительно культивируемого (линия АТ-с) каллуса. В стрессовых условиях наблюдали несущественное увеличение степени генетического разнообразия клеток только у линии АТ-н.

Таким образом, не получено убедительных доказательств индукции изменений последовательности нуклеотидов ДНК под действием неблагоприятных условий. Индукция каллуса и культивирование *in vitro* оказывали более сильное дестабилизирующее влияние на геном, чем дополнительные стрессовые воздействия: высокая температура, аноксия или токсичные ионы меди. Уровень генетической гетерогенности культуры тканей кукурузы с большим и сложным геномом был существенно выше полиморфизма фрагментов ДНК культивируемых клеток *A. thaliana* – вида с маленьким геномом и относительно небольшой долей повторяющихся последовательностей. Действие стрессоров проявлялось главным образом на популяционном уровне и выражалось в селекции клеток с определенными генотипами.

Работа поддержана грантом РФФИ № 13-04-00950.

ПРОТЕИНАЗНО-ИНГИБИТОРНАЯ СИСТЕМА В МЕХАНИЗМАХ АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ К АБИОТИЧЕСКИМ СТРЕССАМ

Protease-inhibitor system in the mechanisms of plant adaptation to abiotic stresses

Домаш В.И., Иванов О.А., Шарпио Т.П., Забрейко С.А.

Государственное научное учреждение «Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь; valdomash@mail.ru

Культурные и дикорастущие виды растений постоянно подвергаются воздействию неблагоприятных факторов биотической и абиотической природы. Такие факторы как температура и доступность влаги, засоление, действие тяжелых металлов и др. определяют границы возделывания ценных сельскохозяйственных культур. Более устойчивые к этим факторам виды растений способны формировать высокопродуктивные биогеоценозы, в то время как неустойчивые могут быть обречены на исчезновение. При воздействии различных факторов, как культурные, так и дикорастущие виды растений отвечают целым рядом биохимических изменений. Адаптация растений к неблагоприятным факторам непосредственно связана с белковой системой, которая отвечает на стресс существенными качественными и количественными перестройками. В этом плане особый интерес представляют протеолитические ферменты, амилазы, белки-ингибиторы различных классов гидролаз и др. Указанные группы белков играют большую роль в различных проявлениях жизнедеятельности растительного организма: в деградации запасных белков при прорастании, синтезе их при созревании семян, защитных реакциях и пр. Имеются сведения об их использовании в биоиндикации в качестве биохимических критериев определения состояния растений при действии стресс-факторов.

В ряде выполненных нами исследований продемонстрированы изменения состояния протеиназно-ингибиторной системы растений в ответ на некоторые абиотические стрессоры. Так, изучение действия разных концентраций NaCl на активность компонентов протеиназно-ингибиторной системы люпина узколистного сорта Першацвет позволило установить, что в первые сутки прорастания, под действием 0,1 М NaCl снижение активности нейтральных и щелочных протеаз в зародышах и семядолях составляет в среднем 40% по отношению к контролю. Активность же ингибиторов трипсина, наоборот, повышается в первые сутки прорастания как в семядолях, так и зародышах. В зрелых же семенах люпина, выращенных в присутствии данной концентрации хлорида натрия, наблюдается увеличение активности БАПАазы и ингибиторов трипсина в среднем на 22%. Результаты исследований позволили установить, что реакция на засоление наблюдается, в основном, на ранних стадиях прорастания. Засоление вызывает ответную реакцию растений в виде накопления отдельных компонентов системы протеолиза.

Реакция растений отмечена и при воздействии ионов кадмия. Установлено, что толерантность люпина узколистного и желтого снижается с увеличением концентрации ионов кадмия. Так, если при 0,1 мМ $CdCl_2$ индекс толерантности люпина узколистного и желтого составляет соответственно 0,73 и 0,80, то при 0,5 мМ – 0,39 и 0,41. Индекс толерантности гороха составляет при 0,5 мМ $CdCl_2$ величину 0,81, что свидетельствует о более высокой устойчивости этой культуры к действию тяжелых металлов. В условиях 0,2 мМ $CdCl_2$, в листьях 20-дневных растений люпина узколистного и гороха наблюдалось повышение активности нейтральных протеаз в среднем на 12%, в то время как активность ингибиторов трипсина повышалась в 2 раза по сравнению с контролем. Увеличение активности ингибиторов трипсина связано с появлением новых зон с относительной электрофоретической подвижностью 0,58 и 0,65.

Установлено, что компоненты протеиназно-ингибиторной системы обладают адаптогенным действием и в условиях техногенного загрязнения. Показано, что дикорастущие виды растений, произрастающие на территориях вблизи крупной автомагистрали «Минск-Гомель» (М5/Е271) имеют разный уровень активности компонентов системы протеолиза в зависимости от удаленности от магистрали. Так, например, растения подорожника большого (*Plantago major)*, выросшие на небольшом расстоянии от дороги (2,0-5,0 м) имели активность нейтральных протеаз на 26-49% выше, чем в контроле (3,0 км). Повышение активности БАПАазы составляла 13-18%. Активность антистрессовых белков-ингибиторов протеиназ повышалась на 30-70% в зависимости от удаленности от техногенной зоны. Следует отметить и повышение активности ингибиторов трипсина в листьях одуванчика лекарственного *(Taraxacum officinale)* и черники обыкновенной (*Vaccinium myrtillus*), находящихся на расстоянии 3,0 м от магистрали, по сравнению с контролем, в среднем на 30%.

Таким образом, наши исследования позволили установить, что компоненты протеиназно-ингибиторной системы являются чувствительным звеном метаболизма растений при воздействии стрессовых факторов. Известно, что стресс вызывает накопление активных форм кислорода, инактивация которых происходит благодаря антиокислительным веществам, к которым относятся и белки-ингибиторы протеиназ, являющиеся одним из компонентов системы протеолиза. Абиотический стресс вызывает ответную реакцию растений в виде повышения активности системы протеолиза, что способствует адаптации растений.

ВЛИЯНИЕ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА И МИНЕРАЛЬНОГО СОСТАВА СРЕДЫ НА РАЗВИТИЕ ИЗОЛИРОВАННЫХ ЭКСПЛАНТОВ НУТА *CICER ARIETINUM* L.

Effect of the growth regulators and medium mineral composition on the development of isolated explants of chickpea *Cicer arietinum* L.

Донская М.В., Суворова Г.Н.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт зернобобовых и крупяных культур, 302502, Орел, Россия; galina@vniizbk.ru

Нут *Cicer arietinum* L. является одной из самых засухоустойчивых культур среди зерновых бобовых, посевные площади под ним в Российской Федерации ежегодно увеличиваются. В связи с чем возникает потребность в новых сортах и новых методах селекции, включая биотехнологические. Изучение влияния регуляторов роста на развитие изолированных эксплантов нута позволить разработать методы культивирования и регенерации *in vitro*, которые лежат в основе многих современных биотехнологий.

Изучение действия регуляторов роста проводили на 2 образцах коллекции ВИР: к- 1029 (семена черной окраски морщинистые, тип Desi), к-1507 (семена темно-коричневой окраски, тип Desi). Для стерилизации семена последовательно ополаскивали 70% раствором этанола с последующей промывкой стерильной водой, и непосредственно стерилизовали в 0,5% растворе хлоргексидинглюконата натрия в течение 5минут. Первичными эксплантами являлись фрагменты эпикотилей недельных стерильных проростков. В качестве индукционных использовали 10 вариантов сред с минеральной основой MS или B5 и различающихся составом регуляторов роста.

На первом этапе было изучено 6 вариантов питательных сред, содержащих 5, 10, 20 мкМ БАП в сочетании с 0,1-1 мкМ ИУК или НУК. Скорость роста тканевой массы, также как и число вновь формирующихся побегов существенно зависели от генотипа и от состава регуляторов роста в среде. Лучшие результаты получены у образца к-1507, у которого в среднем по всем вариантам опыта формировалось 4,0 побега на эксплант, и прирост ткани составил 16,9 мг/сутки, у образца к-1029 среднее число побегов составило 2,6 и средний прирост тканевой массы 7,5 мг/сутки. Комбинация БАП с ИУК обеспечивала средний прирост на уровне 6,2 мг/сутки для генотипа к-1029 и 11,4 мг/сутки для образца к-1507. На средах содержащих БАП в сочетании с НУК прирост изолированных тканей составил 10,2 мг/сутки для образца к-1029 и 23,9 мг/сутки для образца к-1507. В целом наиболее эффективным для роста было использование в качестве ауксина α-нафтилуксусной кислоты в сравнении с индолилуксусной кислотой. Концентрация цитокинина не оказывала существенного влияния на скорость роста изолированных тканей.

На втором этапе было проведено изучение действия разного минерального состава и различных цитокининов на рост эксплантов на примере генотипа к-1507. Вместо ИУК или НУК в качестве ауксина среды содержали индолилмасляную кислоту. Результаты показали существенное преимущество минеральной основы B5 в сравнении с MS в отношении формирования побегов *in vitro*. Влияние типа цитокинина на развитие побегов было несущественным. На средах B5 формировалось в среднем 4,4 побега на пробирку, на средах MS развивалось 3,3 побега на пробирку. Максимальное число побегов 5,14 на пробирку отмечено на среде B5 содержащей БАП. Средняя скорость прироста тканевой массы на изученных средах в течение первого пассажа составила 25,5 мг/сутки, что значительно выше чем в предыдущем эксперименте. На средах B5 не было выявлено различий по влиянию типа цитокинина на скорость роста ткани (26,2 и 26,8 г/сутки). На средах с основой MS прирост тканевой массы на среде с БАП составил 19,3 мг/сутки, на среде содержащей 2iP скорость прироста ткани составила 29,1 мг/сутки. Следует отметить что на средах с 2iP наблюдалось меньше некротизированных участков в сравнении со средами содержащими БАП. Данная серия экспериментов показала что более интенсивный рост тканей наблюдается на средах содержащих в качестве ауксина индолилмасляную кислоту в сравнении с индолилуксусной и нафтилуксусной кислотой.

Таким образом установлено, что первичный рост и развитие побегов нута на питательных средах *in vitro* зависят от генотипа, минерального состава и регуляторов роста в среде. Оптимальным для индукции роста изолированных фрагментов проростков нута *in vitro* является сочетание минеральной основы B5 с 6-бензиламинопурином или изопентиладенином в качестве цитокинина и индолилмасляной кислотой в качестве ауксина.

СЕЛЕКТИВНЫЙ СВЕТ *IN VITRO* И В УСЛОВИЯХ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ГИДРОПОННОГО МОДУЛЯ ВЫРАЩИВАНИЯ ОЗДОРОВЛЕННЫХ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ

Application of selective light during growth of viruses free potato plants *in vitro* and in the hydroponic cultivation module

Дорофеев В.Ю., Головацкая И.Ф., Медведева Ю.В., Гвоздева Е.С., Карначук Р.А.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», Томск, Россия
dorofeev.v2012@yandex.ru

Картофель - сельскохозяйственная культура, которая из-за биологических особенностей, в наибольшей степени, чем другие, подвержена вирусным, вироидным и микоплазменным заболеваниям, что является причиной низкого урожая на 30–40%. Потери урожая происходят как при выращивании в поле, так и при хранении. Защита семенного картофеля от вирусных и других инфекций, а также сохранение репродуктивных свойств сортов обеспечиваются системой безвирусного семеноводства картофеля. Основным способом оздоровления растений картофеля – является метод апикальных меристем и получение микроклонов *in vitro*. Ранее нами показано, что свет разного спектрального состава регулирует рост, продуктивность растений картофеля *in vitro*.

Для практической реализации технологии необходимо наличие гидропонного биотехнологического модуля, функционирующего круглогодично в круглосуточном режиме и позволяющего эффективно производить безвирусные миниклубни без контакта с почвенными патогенными микроорганизмами. Профессором Р.А. Карначук было организовано направление работ на кафедре физиологии растений и биотехнологии Томского государственного университета по оздоровлению и производству безвирусного исходного семенного картофеля (миниклубней) на гидропонных установках с применением современного молекулярного ПЦР-анализа растений для контроля за чистотой растительного материала.

В работе использовали растения картофеля сортов Крепыш, Red Scarlet, Луговской и Фреско которые является перспективным для возделывания в Западно-Сибирском регионе. Исходный безвирусный сертифицированный растительный материал (микроклоны) приобретен в ГНУ ВНИИКХ им. А.Г. Лорха РАСХН (г. Москва). Основной ценностью сортов является нематодоустойчивость.

Изучены ростовые характеристики и содержание фотосинтетических пигментов (хлорофилл a и b, каротиноиды) в листьях верхних ярусов микроклонов картофеля сортов Крепыш и Red Scarlet *in vitro* через 28 суток культивирования на свету разного спектрального состава. Растения культивировали на белом свету люминесцентных ламп при досветке красным (λ_{max} 620-680 нм) и синим (λ_{max} 430-480) светом одной и той же интенсивности. Показано, что сухая масса микроклонов растений картофеля сортов Крепыш и Red Scarlet, экспонированных в режиме досветки на синем свету, достоверно превышала этот показатель в вариантах на красном свету. Досветка синим светом сокращала длину междоузлий и, как следствие, длину растений картофеля сорта Крепыш *in vitro*, в то время как на красном свету побеги удлинялись. Синий свет также способствовал большему накоплению хлорофиллов а и б, а также каротиноидов, по сравнению с вариантами на красном свету и контролем на белом свету. Показана эффективность применения досветки красным светом растений картофеля фитофтороустойчивого сорта Луговской *in vitro*, при действии которого наблюдали наибольший прирост сухой массы побега, увеличение площади листовой поверхности, объема корневой системы и содержания фотосинтетических пигментов.

Проведено исследование регуляторной роли дополнительного селективного синего света на рост растений картофеля нематодоустойчивых сортов Red Scarlet и Фреско при культивировании в условиях гидропонного биотехнологического модуля «Картофельное дерево» (КД-10). Показано, что досветка синим светом способствовала столонообразованию и повышению продуктивности миниклубней.

Таким образом, полученные результаты дают основание для разработки оптимального режима освещения с применением дополнительной досветки селективным светом при гидропонном культивировании растений картофеля районированных для Сибири сортов с целью сокращения сроков вегетации, ускорения столоно- и клубнеобразования

РОЛЬ СЕЛЕКТИВНОГО СВЕТА, 24-ЭПИБРАССИНОЛИДА И ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ В НАКОПЛЕНИИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРОЙ *ATRAGENE SPECIOSA* WEINM. *IN VITRO*

Role of selective light, 24 epibrassinolide and humic acids in the accumulation of biologically active substances of *Atragene speciosa* Weinm. cell cultures *in vitro*

Дорофеев В.Ю., Медведева Ю.В., Карначук Р.А.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», Томск, Россия
dorofeev. v2012@yandex.ru

В производстве лекарственных веществ часто используются биотехнологические методы для получения ценных метаболитов растений, природные источники сырья которых малочисленны, имеют ограниченные ареалы, а биологическая особенность вида не позволяет успешно его интродуцировать. К таким редким и ценным лекарственным растениям относится княжик сибирский *(Atragene speciosa* Weinm.) сем. *Ranunculaceae* - многолетняя лиана флоры Сибири, природные заросли которой разрежены и занимают небольшие площади. Интродукция этого вида, в связи с морфологическими особенностями, затруднена. Растение издавна используется в традиционной тибетской медицине для лечения широкого спектра заболеваний. Это обусловило интерес к изучению состава фармакологически активных веществ этого растения. В НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга получена фармакологически активная фракция, в которую входят фенолоспирты, тритерпеновые сапонины и флавоноиды.

Ранее, на каф. физиологии растений и биотехнологии ТГУ под руководством проф. Р.А. Карначук, получено несколько линий каллусной культуры княжика сибирского *in vitro,* которые отличались морфологией, жизнеспособностью, ростовой активностью, а также содержанием фенолоспиртов. Наиболее продуктивные линии накапливали в несколько раз больше фенолоспиртов, чем интактные растения, и являлись источником для получения суспензионной культуры *Atragene speciosa* Weinm. *in vitro*.

Суспензионную культуру *Atragene speciosa* Weinm. получали и выращивали в питательной среде по прописи Мурасиге-Скуга с добавлением гормонов 2,4-Д и 6-БАП в течение 20 суток в условиях селективного освещения и темноте в колбах на орбитальных шейкерах. В качестве источника селективного света использованы люминесцентные лампы синего и красного света равной интенсивности. Анализ содержания физиологически активных веществ проводили спектрофотометрическим методом с использованием двулучевого сканирующего спектрофотометра.

Показано, что синий свет значительно увеличивал накопление фенолоспиртов в клетках суспензионной культуры до 2,23±0,04% по сравнению с вариантами культивирования на красном свету (0,47±0,13%) и в темноте (1,52±0,08%) первого пассажа. Во втором субкультивировании содержание фенолоспиртов в клетках суспензии достигло 2,34 ± 0,09 % на синем свету. Обнаружено накопление суммы фенолоспиртов в питательной среде до 1,85±0,09% в темноте, что дает возможность предположить секрецию этих соединений в питательный раствор.

Важным моментом при культивировании клеточных культур является оптимизация продукционного процесса добавлением в питательную среду физиологически активных соединений, в том числе, гормонов. Проведены исследования по влиянию 24-эпибрассинолида и гуминовых кислот на рост клеток в каллусной и суспензионной культурах. 24-Эпибрассинолид в концентрации 10^{-9} М стимулировал прирост как каллусной, так и суспензионной культуры клеток. При добавлении 24-эпибрассинолида в концентрации 10^{-6} М наблюдали максимальное содержание флавоноидов (до 5,15%) в каллусной культуре клеток со второго по шестое субкультивирования, сопоставимое с их количеством в листьях интактного растения. 24-Эпибрассинолид в концентрации 10^{-8} М стимулировал образование высокополярных тритерпеновых сапонинов в суспензионной культуре десятого субкультивирования. Гуминовые кислоты в концентрации 10^{-4} % в питательной среде способствовали образованию двенадцати фракций высокополярных тритерпеновых сапонинов в клетках каллусной культуры пятнадцатого субкультивирования.

Полученные результаты позволяют говорить о сохранении способности к накоплению названных соединений и возможности регуляции их содержания в культуре *Atragene speciosa* Weinm. *in vitro* для создания на ее основе перспективного фитопрепарата с адаптогенным и ноотропным действием.

ВЛИЯНИЕ МУТАЦИЙ ПО ГЕНАМ МЕМБРАННЫХ РЕЦЕПТОРОВ ЦИТОКИНИНА *ARABIDOPSIS THALIANA* НА ЦИТОКИНИН-ЗАВИСИМУЮ ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ ХЛОРОПЛАСТНЫХ БЕЛКОВ ЯДЕРНОГО И ПЛАСТИДНОГО КОДИРОВАНИЯ В УСЛОВИЯХ ТЕМНОТЫ

The effect of mutations in genes of *ARABIDOPSIS THALIANA* membrane cytokinin receptors on cytokinin-dependent expression of nuclear and plastid genes incoding chloroplast proteins in darkness

Дорошенко А.С.[1], Данилова М.Н.[2], Кудрякова Н.В.[2]

[1] *Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия* anastasiya04101993@gmail.com

[2] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия;* nkudryakova@rambler.ru

Цитокинины (ЦК) представляют собой группу растительных фитогормонов, оказывающих влияние на различные аспекты жизнедеятельности растительного организма. В растительной клетке ЦК сигнал воспринимается при помощи трех мембранных белков-рецепторов семейства *АНК* (*АНК2, АНК3* и *АНК4, от англ. Arabidopsis Histidine Kinase),* которые передают ЦК сигнал в ядро посредством двукомпонентной сигнальной системы.

Одним из наиболее ярких проявлений физиологической активности ЦК сигнала на растение является стимуляция биогенеза пластид. В условиях освещения цитокинины стимулируют формирование фотосинтетически-активных хлоропластов, положительно влияют на накопление фотосинтетических пигментов, ультраструктуру хлоропластов, синтез хлоропластной рРНК. Цитокинины способны стимулировать биогенез пластид у растений, выращенных не только на свету, но и в темноте. Это влияние экзогенного ЦК проявлялось в формировании морфологических особенностей, свойственных для растений, выращенных в условиях освещения, таких как укорочение гипокотиля, формирование настоящих листьев и наличие развитых хлоропластов. Ведущая роль в восприятии ЦК сигнала в темноте и формировании «светового» фенотипа растений, выращенных в условиях темноты, принадлежала рецептору АНК3, способному действовать самостоятельно или в комбинации с АНК2 и АНК4.

Данное исследование было посвящено изучению роли рецепторов цитокинина *A. thaliana* в цитокинин-зависимой экспрессии генов хлоропластных белков пластидного и ядерного кодирования в условиях скотоморфогенеза. Анализ содержания транскриптов проводили при помощи метода ПЦР в реальном времени после обратной транскрипции.

По результатам проделанной работы с использованием одинарных и двойных инсерционных нокаут-мутантов *Arabidopsis thaliana* по генам рецепторов цитокининов показана ключевая роль рецептора АНК3, самостоятельно и в комбинации с АНК2 и АНК4, в цитокинин – зависимой регуляции уровня транскриптов генов пластидного кодирования, таких как *psbA, atpB, ndhA, rbcL*, и ядерных генов аппарата транскрипции пластома, а именно *RpoTp* и *RpoTmp*.

Работа выполнена при частичном финансовой поддержке РФФИ (грант №14-04-00818).

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ *ADH1A* и *ADH2A* В ПРОРОСТКАХ ЯЧМЕНЯ ПРИ СОВМЕСТНОМ ДЕЙСТВИИ НИЗКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ И ИЗБЫТОЧНОГО УВЛАЖНЕНИЯ

ADH1A and *ADH2A* gene expression in barley seedlings under combined action of low temperature and excessive humidity

Дремук И.А., Шалыго Н.В.

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь; irinadremuk@yandex.ru

Неблагоприятные факторы внешней среды - низкая температура (НТ) и избыточное увлажнение (ИУ) - нарушают нормальное протекание физиолого-биохимических процессов в растениях, что ведет к снижению их продуктивности. Зачастую эти стрессоры действуют одновременно, что еще больше снижает жизнеспособность растений и увеличивает потери урожая. Известно, что одним из способов адаптации растений к ИУ, при котором создаются условия гипоксии (недостатка кислорода), является переключение окислительного метаболизма углеводов на анаэробное дыхание. В этом процессе важная роль принадлежит ферменту алкогольдегидрогеназе (АДГ). В растениях ячменя семейство генов АДГ имеет несколько изоформ, наиболее важными из которых являются *ADH1A* и *ADH2A.* Известно, что в условиях гипоксии в корнях риса, ячменя, гороха и арабидопсиса происходит увеличение активности АДГ, а также возрастание уровня экспрессии генов *ADH1A* и *ADH2A.* При воздействии НТ в корнях кукурузы и риса, а также в семенах и в проростках арабидопсиса также наблюдается увеличение уровня экспрессии гена *ADH1A* и увеличение активности АДГ, связанные с генерацией пероксида водорода. Целью нашего исследования явилось изучение влияния совместного действия НТ и ИУ на уровень экспрессии генов *ADH1A* и *ADH2A* в проростках ячменя.

В качестве объекта исследования использовали листья и корни проростков ячменя *(Hordeum vulgare* L.) сорта Гонар, выращенных при температуре 23±2ºС в режиме 14 ч фотопериода (интенсивность 150 мкмоль квантов/($м^2$·с)). Для моделирования совместного действия НТ и ИУ 5-дневные растения ячменя на 3-е суток (стрессовый период) помещали в холодильную камеру с температурой 4˚С и указанным выше фотопериодом и заливали водой до середины колеоптиля, после чего растения возвращали на 3-е суток в нормальные условия выращивания (постстрессовый период). Навески листьев, срезанных выше колеоптиля, брали для исследования перед началом действия стрессора, через 24 и 72 ч после начала стресса, а также в постстрессовый период через 72 ч после снятия стрессового воздействия. Основным контролем служили растения ячменя, выращенные в нормальных условиях. В качестве дополнительных контролей использовали растения, находившиеся в условиях НТ (4˚С) с нормальным водоснабжением, а также растения, находившиеся в условиях ИУ при температуре 23±2˚С. Уровень экспрессии генов *ADH1A* и *ADH2A,* а также гена-нормализатора - *18S rRNA* определяли методом ПЦР-анализа с использованием ген-специфичных праймеров с последующей визуальной идентификацией полученных продуктов амплификации после разделения в агарозном геле.

Показано, что в листьях контрольных и опытных растений продукты амплификации для генов *ADH1A* и *ADH2A* практически не регистрировались, тогда как в корнях детектировался высокий уровень ПЦР-продуктов для указанных генов. Эти результаты согласуются с полученными нами ранее данными по активности АДГ. В частности, было показано, что в листьях активность АДГ в 10 раз ниже, чем в корнях, что указывает на органоспецифичность экспрессии и синтеза АДГ в растениях.

Установлено, что уровень экспрессии генов *ADH1A* и *ADH2A* в контроле и в опытных вариантах в условиях действия стрессовых факторов существенно различался. Так, в корнях растений ячменя через 3 сут действия ИУ происходило увеличение количества ампликонов для гена *ADH1A* в 2,6 раза, при действии НТ - в 1,4 раза, а при действии НТ+ИУ - в 1,6 раз по отношению к контролю соответственно. В постстрессовый период количество ПЦР-продуктов для гена *ADH1A* во всех опытных вариантах снижалось и приближалось к контролю. В то же время, уровень экспрессии гена *ADH2A* в условиях НТ практически не изменялся в течение всего стрессового периода, тогда как при ИУ и НТ+ИУ количество ампликонов для гена *ADH2A* увеличивалось на 70% и 24% соответственно. Через 3 сут после снятия стрессового воздействия уровень экспрессии гена *ADH2A* при ИУ, НТ и НТ+ИУ был близок к контролю.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что при НТ происходит увеличение уровня экспрессии гена *ADH1A,* тогда как в вариантах ИУ и НТ+ИУ наблюдается повышенная экспрессия и *ADH1A,* и *ADH2A.* При этом возрастание уровня экспрессии гена *ADH2A* было менее значительным. Учитывая полученные нами ранее результаты по активности АДГ, можно сделать вывод, что увеличение активности АДГ при ИУ и при совместном действии НТ и ИУ обусловлено повышенной экспрессией преимущественно гена *ADH1A.*

ВЛИЯНИЕ НИКЕЛЯ НА НЕКОТОРЫЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ВИДОВ РАСТЕНИЙ СЕМ. *BRASSICACEAE* В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ

Effect of nickel on some physiological parameters of *Brassicaceae* species under experimental conditions

Дроздова И.В.[1], Калимова И.Б.[1], Беляева А.И.[1], Смирнова Н.А.[2]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия; alyssum7@gmail.com*

[2] *Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; nadya-moon@mail.ru*

Тяжелые металлы (ТМ) относятся к числу наиболее опасных для природной среды химических загрязняющих веществ. Одним из распространенных ТМ, поступающих в атмосферу из-за техногенного рассеяния, является Ni. В повышенных концентрациях он оказывает токсическое действие на самые разнообразные физиологические процессы.

В модельном опыте изучали влияние повышенных концентраций Ni на накопление биомассы, аккумуляцию ряда элементов минерального питания, уровень основных фотосинтетических пигментов у сеянцев видов растений сем. *Brassicaceae*: *Alyssum calycinum*, *A. campestre*, *A. murale*, *Erysimum ibericum*. Вегетационные опыты в песчаной культуре проводили в контролируемых условиях со световым периодом 16 ч с внесением повышенных доз никеля. 50 дневным растениям, выращенным на ½ концентрации питательного раствора Арнона, в опытных вариантах вносили 1 мМ и 2 мМ Ni, в контроле – раствор Арнона. Опыты были сняты после 10 дневной экспозиции на металле. Атомно-абсорбционным методом изучено содержание K, Ca, Mg, Fe, Zn, Mn, Ni, Cu, Co в корнях и вегетативной надземной части сеянцев. Содержание хлорофиллов и каротиноидов, а также P определяли спектрофотометрически.

Уже при визуальных наблюдениях за состоянием растений обнаружились межвидовые различия. На листьях сеянцев *Alyssum calycinum* при концентрациях 1мМ и 2 мМ Ni и *A. campestre* при концентрации 2 мМ Ni на 4 сут проявились признаки токсичности Ni: хлорозы, небольшие некротические пятна. На листьях сеянцев *E. ibericum* подобные симптомы появились позднее – на 7 день. Сеянцы *A. murale* нормально развивались в присутствии Ni в обеих концентрациях и по внешним признакам не отличались от контроля.

Обнаружено, что угнетение роста сеянцев видов *A. calycinum* и *A. campestre* сопровождалось снижением продуктивности. Отрицательное действие Ni проявилось в большей степени на корнях изученных видов. Так, например, у *A. campestre* Ni в концентрации 1мМ вызывал снижение накопления сухой биомассы корней на 53% по сравнению с контролем. Увеличение дозы Ni в 2 раза приводило к дальнейшему снижению массы корней – на 65%. Внесенные концентрации Ni не оказывали существенного влияния на изменение биомассы корней *E. ibericum* и *A. murale*. У этих видов проявился стимулирующий эффект более низкой дозы Ni на накопление сухой биомассы надземных органов. Она оказалась выше на 56% и 21% соответственно по сравнению с контролем.

Установлены существенные различия в аккумулирующей способности изученных видов по отношению к Ni. Уже при дозе Ni 1мМ содержание его в вегетативной надземной части у вида – гипераккумулятора Ni – *A. murale* составило 1400 мг/кг, что в 10 раз больше по сравнению с уровнем элемента в надземной части у *A. calycinum*, в 6.2 – у *A. campestre* и в 5.4 – у *E. ibericum*.

Проведенные исследования показали различия в ответной реакции фотосинтетического аппарата исследованных видов на повышенные концентрации Ni в среде. Количество хлорофилла *a* в надземной части сеянцев *A. campestre* под действием Ni в концентрации 1мМ снизилось больше, чем на 60%, сеянцев *A. calycinum* – на 45% по сравнению с контролем. Отрицательное влияние металла на хлорофилл *b* и каротиноиды для этих видов оказалось несколько слабее: 50 и 40%, соответственно. На вариантах с *E. ibericum* и *A. murale* при внесении в среду 1мМ Ni, напротив, отмечено увеличение содержания зеленых пигментов и каротиноидов. Сильнее всего – на 38% по сравнению с контролем повысился уровень хлорофилла *b* у *E. ibericum*. У *A. murale* увеличение концентрации каротиноидов (на 29%) было выражено сильнее, чем хлорофилла *a* (на 22%) и *b* (на 25%). У 2-х последних видов с увеличением дозы Ni его стимулирующее влияние на содержание хлорофилла *a* сохранялось. Уровень же хлорофилла *b* и каротиноидов при дозе Ni 2 мМ у них снизился и практически не отличался от контроля. В присутствии повышенных концентраций Ni в среде обнаружено снижение аккумуляции элементов минерального питания у *A. calycinum*, *A. campestre*, *E. ibericum*. В вегетативной надземной части и, особенно в корнях у этих видов наблюдалось 2-2.5 раза более низкое содержание P и K, а также микроэлементов: Cu, Zn, Mn. В отличие от вышеперечисленных видов у вида-гипераккумулятора Ni *A. murale* данный металл в исследованных концентрациях не оказал заметного влияния на накопление макро-и микроэлементов в корнях и вегетативных надземных органах.

На основании проведенных исследований можно заключить, что по степени устойчивости к действию повышенных концентраций Ni исследованные виды сем. *Brassicaceae* располагаются в убывающий ряд: *A. murale* > *E. ibericum* > *A. calycinum* > *A. campestre*. В экспериментальных условиях подтверждена гипераккумулирующая способность *Alyssum murale* по отношению к Ni.

СОЗДАНИЕ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ В БЕЛАРУСИ И НАЦИОНАЛЬНАЯ СИСТЕМА БИОБЕЗОПАСНОСТИ

Development of transgenic plants in Belarus and national system of biosafety

Дромашко С.Е.

Государственное научное учреждение «Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси», Минск, Республика Беларусь; S.Dromashko@igc.bas-net.by

В Республике Беларусь научные исследования, имеющие конечной целью создание трансгенных растений, были начаты по инициативе академика НАН Беларуси Н.А. Картеля в 2002 г. в рамках государственной программы «Генетическая инженерия». В дальнейшем работы по использованию ДНК-технологий для сельского хозяйства и здравоохранения продолжились в ряде учреждений НАН Беларуси Министерства здравоохранения и Министерства образования в рамках гос. программы «Инновационные биотехнологии» на 2007–2011 гг. и на период до 2015 г. Так, в Институте генетики и цитологии НАН Беларуси созданы трансгенные растения табака с геном цитохрома P450scc, геном хитиназы из бактерии *Serratia plymuthica*, льна-долгунца, картофеля. В Институте биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси – ГМ линии *Nicotiana plumbaginifolia* с химерным геном апоэкворина. В Центральном ботаническом саду НАН Беларуси создаются генетически модифицированные растения клевера, клюквы крупноплодной. В Научно-практическом центре по земледелию НАН Беларуси – рапса масличного, в НПЦ НАН Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству – картофеля, в Белорусском государственном университете – рапса масличного и т.д. В 2014 г. впервые осуществлено высвобождение созданного в Институте генетики и цитологии НАН Беларуси трансгенного картофеля на основе сорта белорусской селекции Скарб в окружающую среду для проведения испытаний на опытном поле (полигоне). В нашей стране в настоящее время созданы два полигона: в Центральном ботаническом саду НАН Беларуси (вступил в строй в 2011 г.) и в Институте генетики и цитологии НАН Беларуси (принят в эксплуатацию с 2013 г.). Создается также полигон в НПЦ НАН Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству. В 2015 г. Белорусский государственный университет планирует подать заявку в Министерство природных ресурсов и охраны окружающей среды на выдачу разрешения на высвобождение для испытаний трансгенного рапса. Выдача разрешений на испытания трансгенных растений является одним из звеньев регулирования генно-инженерной деятельности (ГИД) в нашей стране. Начало такому регулированию положило постановление Совета Министров Республики Беларусь «О создании Национального координационного центра биобезопасности» № 963 от 19.07.1998, согласно которому соответствующие функции были возложены на Институт генетики и цитологии НАН Беларуси. Для их реализации в институте было создано специальное структурное подразделение – Национальный координационный центр биобезопасности (НКЦБ). Присоединившись 6.05.2002 к Картахенскому протоколу, Республика Беларусь разработала национальную систему биобезопасности, в основу которой положен накопленный мировой опыт, белорусское законодательство и сложившаяся в стране система государственного управления, ее обязательства по международным соглашениям. Цель системы биобезопасности Республики Беларусь состоит в том, чтобы: 1) защитить человека и природу при осуществлении ГИД и использовании ее результатов; 2) максимально способствовать использованию современных биотехнологий для укрепления экономического положения страны; 3) воспрепятствовать росту финансовых затрат республиканского бюджета; 4) обеспечить максимальную свободу доступа общественности к информации по биобезопасности. Она полностью отвечает требованиям Картахенского протокола по биобезопасности к Конвенции о биологическом разнообразии и включает: законодательство в области биобезопасности; систему рассмотрения заявок и выдачи разрешений в области биобезопасности (система государственной экспертизы ГМО и принятия решений; административная система; система сбора, хранения и распространения информации); систему правоприменения, инспекций и мониторинга; систему просвещения, информирования общественности и ее участия в принятии решений в области биобезопасности, включая обеспечение доступа к информации. Ключевым звеном системы биобезопасности является Закон Республики Беларусь «О безопасности генно-инженерной деятельности», принятый 9.01.2006. Этот закон вместе с актами действующего законодательства и другими правовыми документами, разработанными в его развитие (всего их около 40), составляют основу нормативной правовой базы в области биобезопасности, основными задачами которой является реализация прав граждан Беларуси на жизнь, охрану здоровья, информацию и предотвращение нарушения этих прав. Законодательством Республики Беларусь регулируются следующие основные направления ГИД: генно-инженерная деятельность в замкнутых системах; высвобождение генно-инженерных организмов в окружающую среду для проведения испытаний; использование ГМО в хозяйственных целях; ввоз в Беларусь, вывоз и транзит через ее территорию генно-инженерных организмов; хранение и обезвреживание ГМО. В нашей стране обязательному тестированию на наличие трансгенных конструкций подлежат пищевое сырье, продукты питания, сельскохозяйственная продукция, корма и семенной материал, содержащие сою или кукурузу. Такое тестирование осуществляется в одной из 18 аккредитованных лабораторий детекции ГМО. Использование ГМО или их компонентов в детском питании запрещено законодательно.

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ ПЕРОКСИДАЗЫ И ПОЛИФЕНОЛОКСИДАЗЫ В ПРОРОСТКАХ ЛЬНА ПРИ ОЗОНОВОМ ВОЗДЕЙСТВИИ НА ИХ СЕМЕНА

Changes in the activity of polyphenol oxidase and peroxidase enzymes in flax seedlings under ozone impact on their seeds

Дубцова А.А.

ФГБОУ ВПО Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия, Нижний Новгород, Россия
dubtsova1988@mail.ru

Исследования по воздействию озона на растительные объекты свидетельствуют о различном его влиянии на процессы жизнедеятельности: одни дозы озона стимулируют, а другие подавляют рост и развитие растений. Однако механизм его воздействия изучен не достаточно, особенно в отношении растительных объектов на стадии прорастания семян. Данные о влиянии озона на прорастания ценной сельскохозяйственной культуры – льна обыкновенного (*Linum usitatissimum* L.), перспективной для применения в медицине, не выявлено.

Цель экспериментов - изучение зависимости параметров прорастания и изменение активности ферментов в проростках льна от доз озонового воздействия на его семена.

Материалы и методы. Семена перед началом опыта раскладывали на фильтровальную бумагу в чашки Петри по 50 шт. Затем их помещали в специальную камеру с непрерывным поступлением озона от генератора. Концентрация озона в камере, определяемая спектрофотометрическим методом составляла 19-600 мг/м^3, время озонирования: 2,5; 5; 10; 20; 40 мин. Произведение концентрации озона в камере на продолжительность воздействия определили как дозу озонирования (*D*). Контрольные семена действию озона не подвергались. После озонирования семена помещали для проращивания в термостат. Через 4 дня определяли биохимические показатели проростков, их длину и массу.

Выявлен стимулирующий эффект по длине проростков при дозах озонирования 95-750 мг·мин/м^3, процент отклонения от контроля составил (13-16)%, пиковое значение приходится на дозу озона 190 мг·мин/м^3. При дозе 6000 мг·мин/м^3 и выше отмечен подавляющий эффект. Полученные данные статистически достоверны.

С целью подтверждения полученных результатов и дальнейшего изучения влияния ОВС на процессы прорастания семян льна, проведен анализ биохимического состава проростков, полученных при максимальной (D = 190 мг мин/м^3) и подавляющей (D = 6000 мг мин/м^3) дозах озона, а также у контрольных растений. Озонирование семян льна повышает в его проростках содержание сахаров (для D=190 мг мин/м^3 на 12,0% и D=6000 мг мин/м^3 на 8,3%) и одновременно уменьшает содержание крахмала (для D=190 мг мин/м^3 на 13,0% и D=6000 мг мин/м^3 на 4,2%) и протеина (на 3,5 и 2,1% соответственно).

Получены результаты изменения активности ферментов пероксидазы и полифенолоксидазы в проростках в зависимости от доз воздействия озона: контроль (пероксид.: 0,124 отн.ед.; полифенолокс.: 0,409 отн.ед); доза 190 мг мин/м^3 (пероксид.: 0,134 отн.ед.; полифенолокс.: 0,320 отн.ед); доза 6000 мг мин/м^3 (пероксид.: 0,146 отн.ед.; полифенолокс.: 0,155 отн.ед).

Из полученных данных видно, что динамики активностей обоих ферментов взаимосвязаны: возрастания активности одного из них (пероксидазы) при увеличении озонового воздействия приводит к симметричному подавлению активности другого (полифенолоксидазы). По-видимому, при озонировании в тканях проростков льна возрастает количество различных активных форм кислорода, которые стимулируют защитную антиоксидантную систему организма. Следовательно, потенциируются процессы пероксидации и соответственно увеличивается активность фермента пероксидазы. Уменьшение содержания полифенолоксидазы, вероятно, связано с чрезмерным образованием инициаторов свободнорадикального окисления, что приводит к подавлению активности этого фермента. Несомненно, что в условиях повышенного содержания высокоактивных молекулярных продуктов физиолого-биохимические компоненты антиоксидантной защиты функционируют в комплексе, взаимосвязано, и снижение активности одного из них компенсируется повышением других.

По результатам опытов сделаны следующе выводы:

- озон оказывает существенное влияние на процесс прорастания семян льна;
- выявлен максимальный стимулирующий эффект на процесс прорастания льна, достигший (16±2)% при дозе озонирования 190 мг·мин/м^3.
- возрастания активности пероксидазы при увеличении озонового воздействия приводит к симметричному подавлению активности фермента полифенолоксидазы.

НИЗКОИНТЕНСИВНОЕ ЛАЗЕРНОЕ ИЗЛУЧЕНИЕ - ИНДУКТОР СИНТЕЗА ФОТОПРОТЕКТОРНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ФЕНОЛЬНОЙ ПРИРОДЫ В РАСТИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

Low intensity laser radiation as inductor of the synthesis of photoprotective phenolic compounds in the plant tissue

Дударева Л.В., Рудиковская Е.Г.

ФГБУН Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия; laser@sifibr.irk.ru

К настоящему времени стимулирующее влияние низкоинтенсивного лазерного излучения видимого диапазона на живые ткани, в том числе и растительные, можно считать доказанным. Однако механизмы этого влияния, а также ключевые соединения, участвующие в их реализации, по-прежнему, остаются предметом дискуссии. Полученные нами данные дают основания предполагать, что действие лазерного излучения низкой интенсивности на растения может вызывать реакцию сходную со стрессовой, что выражается в появлении характерных биохимических изменений в тканях. Так, например, показано значительное увеличение в каллусах пшеницы после облучения количества «стрессовых» аминокислот - пролина, гидроксипролина и некоторых других, появление в липидах длинноцепочечных алифатических структур в транспланарной конфигурации, повышение содержания первичных и вторичных продуктов перекисного окисления липидов, повышение активности гидролитических ферментов. Нами установлено также, что низкоинтенсивное лазерное излучение оказывает заметное влияние на структуру мембранных липидов. Под его влиянием существенно изменяется состав жирных кислот, снижается степеньих ненасыщенности. В отношении содержания регуляторов роста первичный ответ на облучение выражался в снижении содержания жасмоновой и индолилуксусной кислот и, одновременно, в значительном росте содержания «стрессовых» абсцизовой и салициловой кислот. Все вышеперечисленные реакции относят к неспецифическим, мало зависящим от природы стрессора. Известно, что реакции на стрессор, обеспечивающие долговременную адаптацию, напротив, большей частью оказываются зависимыми от характера неблагоприятного воздействия. Очевидно, что в случае облучения растений низкоинтенсивным светом лазера имеет место избыточная освещенность. Поэтому логично предположить, что неспецифической реакцией на это воздействие может быть синтез фотопротекторных соединений. Известно, что наряду с каротиноидами, микоспорин-подобными аминокислотами, фотозащитные функции у растений выполняют соединения фенольной природы, в том числе антоцианы, кемпферол, кверцитин и их гликозиды. В связи с этим, целью представляемой работы был сравнительный анализ динамики изменений содержания фотопротекторных соединений фенольной природы (антоцианов, кверцитина и кемпферола), а также общего содержания фенольных соединений в облученных и необлученных листьях *Arabidopsis thaliana* L. Облучение 35-дневных растений *A. thaliana*проводили по разработанному в Институте методу с помощью гелий-неонового лазера, длина волны излучения 632,8 нм, доза 4,5 Дж/см^2. Эта доза была ранее выявлена, как стимулирующая каллусогенез и морфогенетические процессы в растительной ткани. В результате исследований было установлено, что общее содержание фенольных соединений в облученных и необлученных листьях отличалось незначительно. В то же время в содержании кемпферола и кверцитина в листьях арабидопсиса после облучения произошли заметные изменения. Сразу после облучения и через 1 ч после него содержание кверцитина было значительно выше в опыте, чем в необлученном контроле (20,9±2,3 мкг/г сыр. веса и 3,5±0,8 мкг/г сыр. веса, соответственно). Содержание кемпферола, напротив, более чем в три раза уменьшилось в этот же период в облученных образцах по сравнению с контролем (с 2,6±0,5 мкг/г сыр. веса до 0,8±0,3 мкг/г сыр. веса). Что касается антоцианов, то их содержание в первый час после облучения увеличилось на порядок по сравнению с контролем: с 63,1±5,0мкг/г. сыр. веса до 725,2±6,2 мкг/г сыр. веса. Через сутки после облучения это различие уменьшилось, но все еще оставалось достоверно более высоким, чем в необлученном контроле - 101,1±9,3 мкг/г сыр. веса.Считается, что фотопротекторное действие фенольных соединений может быть связано с тем, что они являются эффективными перехватчиками свободных радикалов, в том числе свободно-радикальных АФК, которые как предполагается, вовлечены в индукцию фотопротекторных соединений фенольной природы. Показано также, что при избыточном излучении в тканях растений происходит увеличение содержания флавоноидов с большим числом ОН-групп. В наших экспериментах содержание кверцитина (пять ОН-групп) возросло после облучения в 6 раз по сравнению с контролем, в то время как содержание кемпферола(четыре ОН-группы) в 3 раза уменьшилось. На основании полученных результатов можно предположить, что низкоинтенсивное лазерное излучение в указанных дозах может быть индуктором синтеза фотопротекторных соединений фенольной природы (кверцитина, антоцианов) в тканях листьев арабидопсиса. Показанное увеличение их содержания при облучении светом лазера низкой интенсивности, вероятно, является одной из специфических ответных реакций растения на это воздействие.

0 МЕХАНИЗМЕ ПОГЛОЩЕНИЯ ФОРМАЛЬДЕГИДА В ТКАНЯХ РАСТЕНИЙ

Studies of the mechanism of formaldehyde absorption in plant tissues

Дульцева Г.Г.[1], Цыбуля Н.В.[2]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической кинетики и горения СО РАН, Новосибирск, Россия; ggd220@gmail.com*

[2] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Центральный Сибирский ботанический сад СО РАН, Новосибирск, Россия; ntsybulya@yandex.ru*

В настоящее время наблюдается большой интерес к изучению поглощения органических загрязнителей воздуха помещений тропическими растениями в условиях урбанизированной жилой среды. В научной литературе описаны лишь начальные стадии окислительного метаболизма простейших углеводородов в листьях растений. Однако механизмы поглощения растениями формальдегида пока неизвестны.

Цель работы – сравнительное исследование газопоглотительной активности некоторых тропических растений-фитофильтров, выделение и анализ первичных продуктов взаимодействия формальдегида с компонентами тканей растений, изучение механизмов начальных стадий процесса поглощения формальдегида растениями, сопоставление биохимического отклика и физиологических реакций растения на присутствие формальдегида в воздухе.

Объектами исследований служили следующие виды тропических фитофильтров: *Chlorophytum comosum* (Thunb.), *Kalanchoe daigremontiana* Raym, *Ficus benjamina* L. Растения подвергали действию повышенных концентраций газообразного формальдегида (100-300 мкг/м^3) в течение определенного времени, затем готовили экстракты листьев и исследовали их химический состав при помощи высокоэффективной жидкостной хроматографии, спектрофотометрии, хромато-масс-спектрометрии, тонкослойной хроматографии.

Под воздействием газообразного формальдегида в листьях растений усиливается выработка флавоноидов и уменьшается общее содержание полифенолов, кроме того, он выступает как метилирующий агент. Возможная причина такого действия формальдегида заключается в его активирующем влиянии на фермент полифенолоксидазу, которая переводит полифенолы в соединения хиноидной природы.. Анализ содержания хинонов в листьях растений показал, что особенно большие изменения наблюдаются под воздействием формальдегида в личтьях у видов *Chlorophytum comosum* и *Kalanchoe daigremontiana*. При контакте с формальдегидом в листьях *Ficus benjamina* обнаружено количественное изменение содержания муравьиной и щавелевой кислот (в течение нескольких десятков минут) и увеличение содержание сахаров. По-видимому, формальдегид, поглощенный листьями некоторых растений, выступает как полупродукт при синтезе углеводов. Этот результат позволяет предположить, что растения, способные эффективно поглощать формальдегид из газовой фазы, используют его как элемент питания.

Исследованы изменения химического состава растительных тканей фитофильтров под действием повышенных концентраций газообразного формальдегида. На основании полученных данных можно заключить, что те виды растений, которые обладают способностью поглощать формальдегид из газовой фазы, метаболизируют его с образованием продуктов, физиологически свойственных растению, при этом биохимические черты процесса поглощения формальдегида растениями определяются видовыми особенностями растений: он включается в метаболизм, приводя к увеличению содержания хинонов, сахаров, вызывая изменения концентраций карбоновых кислот.

ПИГМЕНТЫ КСАНТОФИЛЛОВОГО ЦИКЛА: ФУНКЦИИ В ФОТОСИНТЕЗЕ И ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Xanthophyll cycle pigments: function in photosynthesis and ecological significance

Дымова О.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Коми научного центра Российской академии наук, Сыктывкар, Россия; dymovao@ib.komisc.ru

Пигментная антенна фотосинтезирующих организмов организована по единому принципу и состоит из хлорофиллов (Хл) и каротиноидов (Кар), которые локализованы в антенне и в реакционных центрах. Кар, присутствующие в фотосинтетической мембране в виде хлорофилл-каротин-белковых комплексов, выполняют ряд функций: антенной, или светособирающей (неоксантин, фукоксантин, перидинин, аллоксантин), структурной (лютеин), антиоксидантной и фотозащитной. Важная фотозащитная роль Кар связана с механизмом нефотохимического тушения флуоресценции Хл и участием их в обратимых светозависимых реакциях ксантофилловых циклов. При избыточном освещении в присутствии кислорода Кар ксантофилловых циклов предохраняют Хл и липиды фотосинтетических мембран от фотодеструкции. Известно шесть типов ксантофилловых циклов: виолаксантиновый (Сапожников, 1957; Yamamoto et al., 1962), неполный виолаксантиновый (Goss et al., 1998; Gilmore, Yamamoto, 2001), антераксантиновый (Rmiki et al., 1996, 1999), диадиноксантиновый (Stransky, Hager, 1970; Lohr, Wilhelm, 1999, 2001; Ладыгин, 2002), лютеин-5,6-эпоксидный (Rabinowitch et al., 1975; Bungard et al., 1999; García-Plazaola et al., 2003, 2007) и сифонаксантиновый (Raniello et al., 2006). Виолаксантиновый и лютеин-5,6-эпоксидный циклы функционируют у высших растений, остальные обнаружены в различных водорослях. Во всех циклах задействованы сходные циклические превращения ксантофиллов – реакции деэпоксидации (прямая реакция, световая) и эпоксидации (обратная реакция, темновая). Ключевым и широко распространенным является виолаксантиновый цикл (ВКЦ). В ВКЦ осуществляется деэпоксидация виолаксантина (Вио) и эпоксидации зеаксантина (Зеа) с участием ферментов – виолаксантиндеэпоксидазы и зеаксантинэпоксидазы соответственно. Главная фотопротекторная функция принадлежит Зеа, способному осуществлять безопасную тепловую диссипацию избыточно поглощенной энергии до передачи ее в реакционный центр фотосистемы II (Demmig et al., 1987). Кар ВКЦ способствуют защите липидов при окислительном стрессе (Havaux, 1998), модулируют физические свойства тилакоидной мембраны (Gruszecki, 1999, 2014), участвуют в реакции растений на синий свет (Quinones, Zeigel, 1994), регуляции синтеза абсцизовой кислоты (Marin et al., 1996).

Были исследованы сезонные и суточные изменения пула каротиноидов и уровень конверсии пигментов ксантофиллового цикла в листьях растений бореальной зоны. У всех изученных видов (около 15), независимо от их стратегии и жизненной формы, в составе желтых пигментов превалировали ксантофиллы, преимущественно лютеин (70%). На долю β-каротина приходилось 15-20% суммы каротиноидов. Уровень деэпоксидации пигментов ВКЦ прямо зависел от условий освещенности в местообитаниях и варьировал в пределах от 10-15 до 60-70%. У растений открытых местообитаний деэпоксидации может подвергаться около 80% пула Вио. На Зеа приходится до 60% пигментов ВКЦ. Выявлены особенности функционирования ВКЦ в листьях модельных видов растений (*Ajuga reptans*, *Plantago media*, *Gymnadenia conopsea*, др.), формирующих световые и теневые фенотипы. Установлена прямая связь между уровнем конверсии пигментов ВКЦ и уровнем нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла фотосистемы II. Изучение сезонной динамики уровня деэпоксидации (DEPS) пигментов ВКЦ показало, что в пуле ксантофиллов хвои вечнозеленых древесных растений (*Abies sibirica*, *Picea obovata*, *Pinus cembra*, др.) осенью возрастает количество антераксантина (Ант) и Зеа. Высокий уровень DEPS пигментов ВКЦ сохраняется в зимне-ранневесенний период, что свидетельствует об ингибировании обратной реакции. Накопление Зеа способствует защите фотосинтетического аппарата (ФСА) вечнозеленых хвойных растений от фотодеструкции в неблагоприятный для фотосинтеза период. Сходную сезонную динамику степени деэпоксидации пигментов ВКЦ обнаружили и у зеленой водоросли - фотобионта талломов листоватого лишайника *Lobaria pulmonaria*. Уровень конверсии компонентов ВКЦ у *L. pulmonaria* зимой был в 1.5-2 раза выше, чем летом, когда активность цикла составляла 20% его потенциальной способности. Сходные закономерности были отмечены и у побегов мха *Neckera pennata.*

В целом, полученные результаты свидетельствуют об экологической роли ВКЦ. Благодаря функционированию зеаксантин-зависимого защитного механизма вечнозеленые хвойные бореальной зоны сохраняют ФСА и способность фотосинтезировать после перезимовки, пойкилогидрические организмы (лишайники и мхи) сохраняют высокую физиологическую активность в осенний и зимне-ранневесенний периоды, а травянистые растения могут осваивать экотопы с различными световыми условиями. Наши результаты существенно дополняют и расширяют представления о регуляторном влиянии внешних факторов на функционировании ВКЦ у растений бореальной зоны.

ГОМОЛОГИ РЕГУЛЯТОРОВ АПИКАЛЬНЫХ МЕРИСТЕМ KNOX У ПЛАУНООБРАЗНЫХ: ВЫЯВЛЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА

Евкайкина А.И.[1], Rydin C.[3], Иванова А.Н.[1], Романова М.А.[2], Pawlowski K.[3], Войцеховская О.В.[1]

[1] *Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург, Россия*
[2] *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*
[3] *Stockholm University, Stockholm, Sweden*

Гомеодоменсодержащие белки KNOX растенийважны в функционировании апикальной меристемы побега растений. Белки KNOX включают в свой состав следующие высококонсервативные последовательности: гомеодомен, ELK-домен, MEINOX-домен. УKNOTTED1-подобных белковгомеодоменсостоит из 63 аминокислот, из которых три располагаются между первой и второйα-спиралями (Bürglin, 1997). Именно благодаря наличиюгомеодомена эти белки являются транскрипционными факторами. К гомеодомену с N-конца тесно примыкает ELK-домен, который,вероятно,функционирует и как сигнал ядерной локализации (MeiselandLam, 1996), и как компонент белок-белковых взаимодействий (Nagasakietal., 2001; Hake, 2004). В состав домена MEINOX входят субдоменыKNOX1 и KNOX2. ДоменMEINOX, и особенно его субдоменKNOX2, важен длябелок-белковых взаимодействий. В зависимости от наличия последовательностей, кодирующих определенные остатки аминокислотв гомеодомене, позиции консервативного интрона и паттернов экспрессии, *KNOX*-гены разделяют на класс 1 и 2 (Kerstetteretal., 1994; Reiseretal., 2000). Гены, которые кодируют KNOXбелки, не содержащие гомеодомен, выделяют в отдельный класс KNATM (MagnaniandHake, 2008). В настоящее время белки, относящиеся к классуKNATM,описаны только для цветковых растений.

Несмотря на то, что белки KNOX обнаружены в различных систематических группах растений, особенности их функционирования наиболее изучены у представителей цветковых. В эволюционном плане особый интерес представляет отдел Lycopodiophyta, являющийся сестринской группой для всех других групп сосудистых растений. Нами был выполнен анализ транскриптома апикальной меристемы *Huperziaselago* с помощью технологии RNA-seq. Было обнаружено, что в апикальной меристеме *Huperziaselago*экспрессируются пять генов, кодирующих белки-гомологи KNOX первого и второго классов. Представителей класса KNATMв апикальной меристеме *Huperziaselago* обнаружено не было. В докладе будут представлены результаты филогенетического анализа KNOTTED1-подобных белков у *Huperziaselago* и представителей других таксонов сосудистых растенийимхов.

Исследование поддержано РФФИ (№13-04-02000, №14-04-0139714). Использовалось оборудование ЦКП БИН РАН.

ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК И ТКАНЕЙ РАСТЕНИЙ *IN VITRO* С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РОСТСТИМУЛИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ РОДА *AZOSPIRILLUM*

Increasing the effectiveness of plant cell and tissue culture *in vitro* by use of plant-growth-promoting bacteria of the genus *Azospirillum*

Евсеева Н.В.[1], Ткаченко О.В.[2], Матора Л.Ю.[1], Бойкова Н.В.[2], Бурыгин Г.Л.[1], Лобачев Ю.В.[2], Щеголев С.Ю.[1]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук, Саратов, Россия; evseeva@ibppm.sgu.ru*

[2] *Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего профессионального образования «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова», Саратов, Россия oktkachenko@yandex.ru*

Совершенствование процедур культивирования клеток и тканей растений *in vitro* является одной из насущных проблем в области биотехнологии растений. Среди современных инновационных агробиотехнологий, направленных на получение высококачественных, экологически чистых продуктов питания, внимание исследователей привлекает потенциал ассоциативных ризобактерий, стимулирующих рост и развитие растений, в качестве инокулята при совместном культивировании растительных и микробных культур. В том числе бактерий рода *Azospirillum* – признанного модельного объекта в исследованиях феномена растительно-микробной ассоциативности.

Цель данного исследования – создание активных ассоциаций бактерий *Azospirillum brasilense* Sp245 с клетками и тканями однодольных (пшеница – *Triticum aestivum* L.; сорт Саратовская 29) и двудольных (картофель – *Solanum tuberosum* L.; сорта Кондор, Аврора, Невский и Розара) растений, культивируемых *in vitro*. При этом оценивалась роль не только целых бактериальных клеток, но и изолированного липополисахарида (ЛПС) – мажорного компонента внешней мембраны грамотрицательных бактерий, обладающего разнообразной биологической активностью.

Были использованы методы: морфометрической оценки состояния клеточных и тканевых культур, иммунофлуоресцентной микроскопии на основе специфических антител к клеткам *A. brasilense* Sp245, цитологического определения митотического индекса клеток корневых меристем. Установлено, что бактериальная инокуляция микроклонов картофеля *in vitro* не только улучшает рост и развитие растений, но и значительно увеличивает урожай миниклубней *ex vitro* благодаря усилению адаптации растений к стрессовым условиям поля. Показатель приживаемости (доля в процентах) бактеризованных растений в условиях открытого грунта превысил в 1,5 раза аналогичный параметр для неинокулированных растений. Урожайность клубней с 1 $м^2$ бактеризованных растений увеличивалась в среднем по генотипам более чем на 45%.

Обнаружено позитивное влияние бактериальных ЛПС из *A. brasilense* Sp245 на формирование каллусов пшеницы с очагами меристематической активности, а также на регенерационную способность культивируемых тканей. При этом введение в состав питательной среды ЛПС энтеробактерий *Escherichia coli* K12 практически не сказывалось на морфогенетической активности каллусных клеток и растениях-регенерантах. Предполагается, что такое различие отражает специфичность механизмов взаимодействия ассоциативных бактерий с растительными партнерами.

Полученные результаты могут быть использованы для повышения эффективности методов клеточной селекции и генной инженерии растений, а также способствуют развитию представлений о молекулярных механизмах распознавания растениями ассоциативных бактерий при создаваемых *in vitro* стандартизованных эктосимбиозах с дальнейшей адаптацией растений к экстремальным условиям *ex vitro*.

ОСОБЕННОСТИ МОРФОЛОГИИ И МЕЗОСТРУКТУРЫ ХВОИ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ В УСЛОВИЯХ РАЗНЫХ ТИПОВ ПРОМЫШЛЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ СРЕДЫ НА УРАЛЕ

Features of morphology and mesostructure of *Pinus sylvestris* needles in the different types of industrial pollution environment in Ural

Евстюгин А.С.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ботанический сад Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Россия; evstugin@r66.ru

Исследование техногенного воздействия на древесные виды проводились на двух полигонах, расположенных в крупных промышленных центрах Южного и Среднего Урала – Саткинском (комбинат «Магнезит») и Ревдинско-Первоуральском (Среднеуральский медеплавильный завод). На первом полигоне в 1981–1983 гг. были заложены экспериментальные культуры сосны в разных зонах загрязнения. Основным компонентом выбросов здесь является магнезитовая пыль, которая определяет щелочной характер загрязнения воздуха и почвы. Образцы хвои отбирались из разных зон запыления на расстоянии 1,5, 5 и 14 км от комбината. На 1 участке большинство деревьев в культурах погибло, у оставшихся сосен наблюдается значительные повреждения, срок жизни хвои составляет в среднем 1,5 года. На других пробных площадях состояние древостоев внешне удовлетворительное. Второй полигон находится в районе Ревдинско-Первоуральского промузла. Объектами изучения здесь являлись культуры сосны 35–40-летнего возраста. Основным компонентом выбросов здесь является сернистый ангидрид (кислотный тип загрязнения). Первый участок культур находится в импактной зоне (3–4 км к востоку от Среднеуральского медеплавильного завода), второй – на расстоянии 7–8 км к югу в зоне умеренного загрязнения (буферной), и третий (контрольный) – в фоновой зоне в 20 км от источника. Результаты оценки состояния культур показали, что у сосны наблюдается значительная дефолиация, сокращается срок жизни хвои. Деревья принимают кустовидную и стелющуюся форму. Насаждения в буферной и фоновой зонах не имеют внешних признаков повреждения.

На всех участках исследовались морфологические параметры хвои 2-го года жизни (размеры хвои, проводящего пучка и смоляных каналов) размеры фотосинтезирующей и механической тканей, а также размеры клеток мезофилла и хлоропластов. Хвоя для анализа отбиралась с освещенной стороны из нижней части кроны; параметры мезоструктуры хвои изучались с помощью программы анализа изображений Siams Mesoplant.

Полученные результаты показали, что длина хвои в Ревде и Сатке имеет близкие значения и изменяется сходным образом – по мере приближения к источникам загрязнения этот показатель достоверно уменьшается. Размеры поперечного среза (толщина, ширина и площадь), напротив, отличаются по-разному в окрестностях Сатки и СУМЗа. Так, в первом случае в фоновой зоне площадь поперечного среза достоверно выше, а во втором (Ревда) – более высокое значение площади имеет срез хвои в импактной зоне. Размеры проводящего пучка и средняя площадь смоляного хода изменяются так же, как и размеры поперечного среза хвои в градиенте загрязнения; количество смоляных ходов в хвое достоверно не изменялось.

Площадь фотосинтетической ткани на срезе повторяет изменения площади среза хвои. Доля мезофилла (в % к общей площади поперечного среза) не имела выраженных изменений в условиях разных типов загрязнения, так же как и доля склеренхимы.

Анализ изменения параметров фотосинтезирующих клеток показал, что площадь поверхности и объем клеток мезофилла менялся в градиенте обоих типов загрязнения сходным образом – по мере приближения к источнику загрязнения размеры клеток увеличивались. Размеры хлоропластов, наоборот, значительно уменьшались в зонах сильного загрязнения. Поэтому в импактной зоне в обоих типах загрязнения в хвое сосны образуются более крупные клетки с большим количеством мелких хлоропластов. Этот результат является наиболее интересным, так как многими авторами было показано, что, напротив, объем хлоропластов является достаточно стабильным признаком.

Таким образом, обнаружены как сходства, так и различия в направлениях изменения морфологических параметров хвои сосны под воздействием разных типов загрязнения.

Сходная и наиболее заметная реакция на загрязнения проявлялась в уменьшении длины хвои, в увеличении размеров клеток и уменьшении размеров хлоропластов при усилении техногенной нагрузки.

Ширина и толщина хвои изменялась противоположным образом в градиентах кислотного и щелочного типов загрязнения.

Изменения структурных параметров фотосинтетического аппарата Pinus sylvestris направлены на поддержание оптимальной интенсивности фотосинтеза и положительного углеродного баланса в условиях техногенной нагрузки.

РЕГУЛЯТОРЫ РОСТА В ПРОЦЕССАХ ПРОРАСТАНИЯ СЕМЯН И РОСТА СЕЯНЦЕВ ХВОЙНЫХ ПОРОД

Growth regulators in seed germination processes and seedling development of coniferous breeds

Егорова А.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт леса Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия; anast.shv@yandex.ru

Выращивание высококачественного посадочного материала древесных растений в достаточном объеме является актуальным для лесной отрасли. От качества сеянцев зависит приживаемость, интенсивность роста лесных культур. Перспективным является введение в технологию выращивания посадочного материала физиологически активных веществ, регулирующих рост растений. В настоящее время в РФ выпускается свыше 4 тыс. синтетических регуляторов роста, из них примерно 50 используются в растениеводстве. Это как природные вещества (фитогормоны), так и синтезированные препараты. Одной из проблем может быть низкая грунтовая всхожесть семян хвойных пород. Показано, что регулятор роста циркон обеспечивает повышение всхожести семян хвойных растений, оказывает положительное влияние на рост однолетних сеянцев. Данный препарат стимулирует активность собственных ауксинов растения. Для повышения всхожести семян лиственницы сибирской *(Larix sibirica* Ldb.*),* особенно низкого класса качества, рекомендуют использовать гумат и эпин. Важным является разработка наиболее эффективных технологий внесения препаратов. Внекорневая подкормка сеянцев сосны юньнаньской (*Pinus yunnanensis* Franch.) ауксинами – ИУК и ИМК значительно улучшала их рост. Опытно-производственная проверка показала биологическую и экономическую эффективность стимуляторов роста – фумара, крезацина, СИЛК, агата-25К, циркона при выращивании сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.). Стимуляторы эпин-экстра и альбит в определенных дозах достоверно активируют рост двулетних сеянцев сосны обыкновенной и ели европейской (*Picea abies* L). Отмечается также, что эпин-экстра в фазе активного роста сеянцев хвойных пород активирует синтез самими растениями гиббереллинов, которые стимулируют дальнейший рост стебля.

Одной из задач научных исследований в лесном хозяйстве является изучение возможности использования имеющихся регуляторов роста, а также поиск и внедрение в производство новых, экологически безопасных, не оказывающих вредного влияния, как на растения, так и на окружающую среду. Большое внимание уделяется биологически активным препаратам, созданным на основе экстрактов растений, в том числе древесной зелени. По исследованию ее состава, комплексной переработке и использованию опубликовано большое количество работ (Солодкий, Агранат, 1956; Ягодин, 1981; Левин, Репях, 1984; Ушанова, 2012). Экстракты корней и веток березы плосколистной (*Betula platyphylla*) способствовали прорастанию семян и росту гипокотиля лиственницы ольгинской (*Larix olgensis*) (Liu , 2011). Выявлено сильное стимулирующее влияние на всхожесть семян и рост проростков сосны китайской (*Pinus tabulaeformis* Carr) растворов, полученных разбавлением 0,01 и 0,02 г $мл^{-1}$ маточных экстрактов (гидромодуль 1:10) корня и опада сосны китайской различного возраста. Стимулирующий эффект экстрактов на прорастание семян и рост проростков увеличивался при увеличении возраста деревьев от 12, 52 и до 110 лет (Meiqiu, 2009). Предполагается, такое аллелохимическое воздействие играет регулирующую роль при естественном возобновлении древостоя, но выявленную закономерность рационально также учитывать при разработке технологий приготовления естественных регуляторов роста из древесной зелени. Производство биостимуляторов из хвои сосны и ели для выращивания сельскохозяйственных культур было организовано на Тихвинском лесохимическом заводе. В последнее время большое внимание уделяется препаратам на основе тритерпеновых кислот, извлеченных из древесной зелени пихты сибирской (*Abies sibirica*): СИЛК (Новосил), Вэрва, Биосил (Кирсанова, 2008; Хуршкайнен, 2004). При использовании растительного сырья в качестве источника определенных биологически активных соединений важно учитывать не только вид растения, но и условия его произрастания, сезонную и суточную динамику содержания исследуемого соединения в конкретных тканях и органах (Чернобровкина и др., 2010). Были выявлены значительные изменения в содержании и биологической активности регуляторов роста в молодой хвое сосны обыкновенной в течение суток в июле (Меняйло, Шульгина, 1977). Эксперименты по изучению влияния водного экстракта, полученного из хвои сосны обыкновенной с учетом времени сбора растительного материала и концентрации экстракта позволили выявить наличие суммарного положительного влияния на накопление сухой массы 15-дневных проростков сосны обыкновенной при осенней (ноябрь) заготовке растительного материала в 10 ч и при летней (июль) заготовке в 10 и 12 ч (Егорова, 2013). При осенней заготовке хвойного экстракта в 8 ч и летней – в 8 и 16 ч наблюдали ингибирование роста проростков. Положительный эффект получали при использовании 15- и 25%-ных растворов маточного экстракта с гидромодулем 1:10. Показано, что при использовании растительного сырья для получения природных регуляторов роста важно учитывать сроки его заготовки, что, несомненно, усложняет технологию получения продукта.

Работа выполнена в рамках государственного задания ИЛ КарНЦ РАН, а также при финансовой поддержке Программы фундаментальных исследований ОБН РАН «Биологические ресурсы России: динамика в условиях глобальных климатических и антропогенных воздействий» в рамках проекта № 01201257867.

МЕХАНИЗМЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ НЕДОСТАТКА КИСЛОРОДА И ПОСЛЕДУЮЩЕГО ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА

Mechanisms of antioxidant defense in plants under the lack of oxygen and subsequent oxidative stress

Емельянов В.В., Ласточкин В.В., Приказюк Е.Г., Чиркова Т.В.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия;
bootika@mail.ru

Для предотвращения действия окислительного стресса растения располагают многоуровневой системой защиты от повреждающего действия активных форм кислорода (АФК). Важнейшей частью антиоксидантной системы являются ферменты, предотвращающие образование АФК или разрушающие их, основную роль среди которых выполняют различные пероксидазы, в т.ч. каталаза, а также аскорбат-глутатионовый цикл (цикл Halliwell-Asada), ферменты которого обеспечивают согласованную работу и эффективное восстановление низкомолекулярных антиоксидантов – аскорбата и глутатиона. В естественных и сельскохозяйственных биогеоценозах растения часто сталкиваются с проблемой дефицита и отсутствия кислорода, которые парадоксальным образом связаны с окислительным стрессом, который возникает сразу после восстановления доступа кислорода.

Влияние аноксии и последующей реаэрации на активность каталазы (КФ 1.11.1.6) и гваяколпероксидазы (секреторная пероксидаза III класса, КФ 1.11.1.7), ферментов аскорбат-глутатионового цикла (аскорбатпероксидазы (КФ 1.11.1.11), монодегидроаскорбатредуктазы (КФ 1.6.5.4), дегидроаскорбатредуктазы (КФ 1.8.5.1) и глутатионредуктазы (КФ 1.6.4.2)), а также содержание низкомолекулярных компонентов аскорбат-глутатионового цикла были изучены у растений пшеницы и риса, контрастных по устойчивости к гипоксии. Более того, у растений риса изучено влияние аноксии и последующей реаэрации на экспрессию генов, кодирующих каталазы и ферменты аскорбат-глутатионового цикла.

Анализ низкомолекулярных компонентов аскорбат-глутатионового цикла выявил аккумуляцию окисленных форм аскорбата и глутатиона, специфичную для неустойчивого растения (пшеницы) при действии на него аноксии и последующей аэрации, что указывает на развитие окислительного стресса у этого растения. У устойчивого объекта (риса) не было обнаружено существенных отличий в уровне низкомолекулярных антиоксидантов в контроле и при действии стрессора, что может указывать на их интенсивное восстановление.

Изучение активности выявило сходные изменения у большинства ферментов. У пшеницы активность ферментов чаще всего существенно подавлялась под действием аноксии и если и восстанавливалась, то только после непродолжительной реаэрации. У риса, наоборот, активность антиоксидантных ферментов сохранялась в условиях отсутствия кислорода и возрастала при пост-аноксической реаэрации. Повышение или поддержание активности ферментов в проростках риса в условиях аноксии и реоксигенации снималось в результате действия циклогексимида и, в меньшей степени, актиномицина D. У риса под действием аноксии и реоксигенации было обнаружено быстрое повышение активности внеклеточной гваяколпероксидазы, которое блокировалось ингибиторами белкового синтеза, а также ингибитором везикулярного транспорта (брефельдином А).

Таким образом, активация ферментов антиоксидантной защиты в проростках риса происходила на транскрипционном, трансляционном и для апопластной формы гваяколпероксидазы – секреторном уровне. Исследования экспрессии генов, кодирующих гваяколпероксидазы, нами не проводились, поскольку в геноме риса обнаружено не менее 160 локусов, обладающих предполагаемой пероксидазной активностью. Суммарная экспрессия генов каталазы возрастала при действии аноксии и, особенно, реаэрации. Наибольший вклад в экспрессию вносили *OsCAT2*, кодирующий фермент пероксисом и цитоплазмы, и *OsCAT3*, продукт которого функционирует в митохондриях. Экспрессия генов, кодирующих ферменты аскорбат-глутатионового цикла, имела сходную динамику: под действием аноксии она поддерживалась на более-менее постоянном уровне, а при пост-аноксической реаэрации возрастала. Важным представляется преимущественная активация при пост-аноксическом окислительном стрессе экспрессии генов, кодирующих аниоксидантные ферменты энергетических органоидов – пластид и митохондрий (*OsCAT3*, *OsAPx5* и *6*, *OsGR3*), что должно предотвращать их окислительное повреждение. Результаты проведенного нами исследования свидетельствуют в пользу преимущественно транскрипционной регуляции работы антиоксидантной системы риса в условиях аноксии и последующего окислительного стресса. Эффективная работа антиоксидантных ферментов при аноксии и пост-аноксической аэрации у устойчивого растения обеспечивает восстановление аскорбата и глутатиона, предотвращает накопление активных форм кислорода и является важным адаптивным механизмом, как к недостатку кислорода, так и последующему окислительному стрессу.

Исследования поддержаны грантами РФФИ 12-04-01029 и 15-04-03090.

КИНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭКСПРЕССИОННОЙ РЕГУЛЯЦИИ ИЗОФЕРМЕНТОВ ФУМАРАТГИДРАТАЗЫ В КУКУРУЗЕ И ИХ ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РОЛЬ

Kinetic characteristics of regulation isoenzyme expression fumarase in maize and their functional role

Епринцев А.Т., Федорин Д.Н., Сазонова О.В.

Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия; bc366@bio.vsu.ru

Фумаратгидратаза (фумараза, L-малат-гидролиаза) – фермент, катализирующий обратимое взаимопревращение малата в фумарат, которое является одной из реакций цикла Кребса, протекающего в митохондриях. Однако существует и цитоплазматическая форма фумаразы. Поэтому целью нашей работы было исследование регуляции экспрессии фумаразных генов и функциональной роли этих двух изоферментов. В качестве объекта исследования использовались щитки семян кукурузы (*Zea mays* L.) сорта Воронежская 76, выращенных гидропонным способом при 10-ти часовом световом дне. Очистку митохондриальной и цитоплазматической фумараз проводили в ходе четырех стадий: выделение фермента, фракционирование сульфатом аммония, гельфильтрация на колонке G-25 и ионообменная хроматография. Электрофоретический анализ в полиакриламидном геле выявил, что уже на третий день прорастания имеются две формы исследуемого фермента. Обнаружено, что максимальная активность фумаразы наблюдается на 4 день прорастания семян, что, вероятно, объясняется активной мобилизацией запасных веществ семени при их прорастании. Исследованы кинетические характеристики обоих изоферментов. Км ФГ по малату составило 2,4 мкМ для цитозольной фумаразы и 58,8 мкМ для митохондриальной.

Для выяснения генетической детерминации фумаратгидратазы нами были разработаны генспецифические праймеры. Проведение ПЦР анализа подтвердило наличие экспрессии двух генов фумаратгидратазы в щитках кукурузы, вероятно, кодирующих разные изоформы исследуемого фермента. Данные количественной ПЦР показывают, что уровень экспрессии генов четко коррелирует с активностью фермента при прорастании семян. Максимальная транскрипция обоих генов ФГ наблюдается на 4 день, однако к 10-му дню прорастания экспрессия обнаруживается только для гена fum1, но этот показатель значительно снижается. Таким образом, на основании полученных нами данных можно заключить, что максимальная активность фумаразы при прорастании семян наблюдается на 4 день экспозиции, что связано с высоким уровнем метаболических процессов в данный период. Установлена неоднородность экспрессии генов фумаразы на разных днях прорастания. Ген fum1 кодирует форму исследуемого фермента, участвующего в работе цикла Кребса. Ген fum2 кодирует цитоплазматическую форму, ответственную за реакции метаболизации сукцината, образующегося в ходе глиоксилатного цикла.

ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ АППАРАТ И ОСОБЕННОСТИ РОСТА МХОВ В ЛЕСНОМ ПОЯСЕ ХИБИН

The mosses photosynthetic apparatus and growth characteristics in the forest belt of the Khibiny mountains

Ермолаева О.В., Шмакова Н.Ю.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Полярно-альпийский ботанический сад-институт им. Н.А. Аврорина Кольского научного центра Российской академии наук, Кировск, Мурманской обл., Роосия; olia.ermolik@yandex.ru

Сведений о роли бриофитов в экосистемах и, особенно на уровне отдельных видов, недостаточно. На уровне экосистемы они могут играть существенную роль в циклах питания, сохранении и доступности воды. Бриофиты обладают толерантностью к высушиванию и представляют альтернативную стратегию адаптации к жизни на суше, осуществляя фотосинтез и рост, когда воды достаточно, и сокращая метаболизм при ее недостатке. Бриофиты имеют два пути для проведения воды, часто совмещая оба в одном и том же растении: по внутренней системе тканей *(эндогидрильные* виды*)* и всей поверхностью гаметофита *(эктогидрильные)*. Эктогидрильные виды не имеют защиты от потерь воды, они воду то накапливают, то теряют.

Цель исследования – изучение параметров фотосинтетического аппарата (интенсивность фотосинтеза, содержание пигментов пластид) и особенностей роста мхов в лесном поясе Хибин. В качестве объектов выбраны виды мхов, широко распространенные, но отличающиеся по способу проведения воды (*Polytrichum commune* Hedw. – эндогидрильный и *Hylocomium splendens* (Hedw.) Bruch.et al. - эктогидрильный). Определение наблюдаемого фотосинтеза проведены при помощи инфракрасного газоанализатора (ГИАМ-15, Россия), содержания пигментов пластид - спектрофотометрическим методом (UV-1800, Япония). Образцы зрелых гаметофитов с развитыми зелеными ассимилирующими органами отбирали через 10-14 дней в течение вегетационного периода. Периодичность измерения роста у маркированных особей мхов составляла 5-15 дней.

Нами выявлено раннее начало роста у *P. commune* и *H. splendens* (возможно уже под снегом) и слабая зависимость от температуры в начале сезона вегетации. Активный рост мхов начинается во второй половине июля, его замедление отмечено в периоды с понижением температуры и недостаточным количеством осадков. В сентябре происходит резкое замедление роста. Причем, более выражены эти процессы у эндогидрильного мха, тогда как у эктогидрильного рост может продолжаться до заморозков. Линейный годичный прирост у *P. commune* и *H. splendens* в конце сезона составил до 35 мм. Скорость роста у мхов изменяется неравномерно. Максимальную скорость роста наблюдали в условиях достаточного увлажнения осадками при температурах воздуха 10-17°С: у *P. commune* она составила 0,6 мм/день, у *H. splendens* – 0,7-0,8 мм/день. При температуре воздуха 6°С и ниже, скорость роста составляла всего 0,1-0,2 мм в сутки, или рост прекращался. Показатели роста связаны с физиологическими особенностями мхов, с их способностью активизировать процессы за короткие промежутки времени при наступлении благоприятных условий. В течение вегетации колебания величин наблюдаемого фотосинтеза довольно велики. У мхов, в отличие от сосудистых растений, фенофазы развития выражены нечетко, поэтому сложно выявить сезонную динамику газообмена. Величины интенсивности фотосинтеза распределяются в соответствие с особенностями температурного и водного режима вегетации. Максимальное содержание воды в ассимилирующих органах исследуемых видов мхов составляет 80-90%. При длительном отсутствии осадков эктогидрильные мхи теряют в 2-3 раза больше влаги, чем эндогидрильные. Минимальное содержание воды у эндогидрильного вида не было отмечено ниже 40%, у эктогидрильного – может составлять до 15%. Сопротивление диффузии влаги из листьев у *P. commune* в несколько раз выше, чем у сосудистых растений; обильные осадки при благоприятной температуре могут наоборот вызвать снижение скорости роста, поскольку блокируется поглощение CO_2, а высокое внутреннее содержание воды препятствует процессу фотосинтеза. *P. commune*, вид хорошо удерживающий влагу, характеризуется высоким уровнем ассимиляции CO_2 (7,9±0,3 мг CO_2/$г_{сух}$ ч); у *H. splendens* этот показатель в 1,5 раза ниже. В суточной динамике углекислотного газообмена отмечено отсутствие круглосуточного газообмена в полярный день. В связи с особенностями поддержания водного баланса эктогидрильные мхи с повышением температуры воздуха и освещенности быстрее снижают интенсивность фотосинтеза, по сравнению с эндогидрильными. Суточная фотосинтетическая продуктивность эндогидрильных мхов составляет около 100 мг CO_2/г сухой массы, эктогидрильных – не превышает 25-65% этой величины. Содержание пигментов пластид у изученных видов мхов сопоставимо с данными для теневыносливых видов сосудистых растений в Хибинах. Содержание хлорофиллов у *P. commune* составляет – 3,0±0,1 мг/$г_{сух}$ веса, у *H. splendens* – 2,1±0,1 мг/$г_{сух}$ веса, содержание каротиноидов одинаковое – 0,57±0,1 мг/$г_{сух}$ веса; соотношение хлорофиллов 2,5-2,8, соотношение хлорофиллы/каротиноиды – 4,4-5,3. Пигментный комплекс эндогидрильного мха оказался устойчивым к дегидратации, содержание хлорофиллов может восстановиться при регидратации после 6 месяцев медленного высушивания. Полученные данные свидетельствуют об устойчивости фотосинтетического аппарата мхов, что обеспечивает их распространение и высокие адаптивные свойства в лесных сообществах Крайнего Севера.

ВЛИЯНИЕ АГРОБАКТЕРИАЛЬНОГО ГЕНА *iaaM HA* РАСПРЕДЕЛЕНИЕ БИОМАССЫ И СТРУКТУРУ ЛИСТА ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ТАБАКА

Effect of agrobacterial gene *iaaM on* biomass distribution and leaf structure in transgenic tobacco plants

Ермошин А.А.[1], Киселева И.С.[1], Борцова С.А.[1], Санаева Ю.В.[1], Алексеева В.В[2].

[1] *Уральский федеральный университет им. Первого президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия*
ermosh@e1.ru

[2] *Филиал Института биоорганической химии им. акад. ММ. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, Пущино, Россия*

Фитогормоны являются одним из ведущих факторов регуляции жизнедеятельности растений. Изучение их роли в онтогенезе растения традиционно осуществляется путем изменения их эндогенного содержания или путем экзогенной обработки. Экзогенная обработка фитогормонами не всегда корректно отражает те изменения, которые происходят в растении при изменении их эндогенного уровня. В связи с этим, целью нашей работы было изучение влияния эффекта гена, кодирующего синтез ауксина - *aaM,* на распределение биомассы и развитие ассимиляционного аппарата листа трансгенных растений табака.

Объектом исследования были растения *Nicotiana tabacum* L. сорта «Самсун», экспессирующие агробактериальный ген биосинтеза ауксина триптофанмонооксигеназы *(iaaM).* Растения были выращены из семян поколения Т1 в закрытом грунте на биостанции УрФУ. В конце вегетационного сезона измеряли высоту растений, число и площадь листьев, сухую массу надземных частей (соцветия, стебель, листья, боковые побеги). При изучении организации фотосинтетического аппарата определяли такие параметры, как объем клеток губчатого и столбчатого мезофилла, число клеток в единице площади листа и в целом листе. Листья фиксировали каждые три дня, начиная с момента закладки листа до окончания его роста.

Поскольку ауксин обладает преимущественно стимулирующим действием, мы предположили, что трансгенные растения с гиперпродукцией ауксина должны характеризоваться большими размерами и фитомассой. Однако мы обнаружили, что высота трансгенных растений была достоверно меньше и составила 75% от высоты в контроле. Соответственно, сухая масса надземной части трансгенных растений также уменьшилась на 21% в сравнении с контролем. Избыток ауксина в растении приводил к уменьшению числа листьев (41,4±0,5 в контроле, 38,7±0,8 у трансгенных растений), но достоверно не влиял на площадь листа (338,1±33,5см в контроле, 305,6±43,3 см у трансгенных растений).

Трансгенные растения отличались от контрольных распределением биомассы. Было рассчитано процентное отношение сухой массы отдельных органов к массе надземной части растения. Мы предположили, что избыток ауксинов, обеспечивая апикальное доминирование, должен подавлять развитие боковых побегов. Показано, что доля массы соцветий и листьев у трансгенных растений не отличалась от контроля, однако избыток ауксина вызвал десятикратное уменьшение относительной массы боковых побегов и небольшое, но достоверное, увеличение (7%) относительной массы стебля. Увеличение его массы может быть связано с тем, что ауксины участвуют в развитии ксилемы, которая составляет основную массу стебля.

Изучение мезоструктуры листа показало, что объем клеток губчатого и столбчатого мезофилла у трансгенных линий на ранних этапах формирования листа не отличался от контроля. При достижении листом 85 - 89% от его конечного размера наблюдали резкий рост (в 2,2-2,9 раза) объема клеток мезофилла у трансгенных растений, в сравнении с контролем. Таким образом, растяжение клеток листа трансгенных растений было более интенсивным.

Результаты позволяют сделать вывод о том, что рост поверхности листа трансгенных растений связан, преимущественно, с процессами растяжения клеток. Однако, несмотря на возрастание объема мезофильных клеток, увеличения размера листа не происходит. Количество клеток в единице площади так же существенно не отличается у трансгенных растений и контрольных. У трансгенных растений это приводит к росту плотности упаковки клеток в объеме листа, начиная со стадии роста клеток растяжением. Избыток эндогенного ауксина приводит также к изменению габитуса растений (уменьшение надземной биомассы, закрученные листья, меньшее число листьев) и распределения массы между стеблем и боковыми побегами. Торможение роста растения может быть связано с повышением концентрации ауксина выше оптимальной.

Таким образом, у трансгенных растений табака, экспрессирующих ген *iaaM,* отмечены изменения ростовых процессов в сравнении с контрольными.

Работа выполнена при поддержке программы повышения конкурентоспособности Уральского федерального университета.

АФК МИТОХОНДРИЙ РАСТЕНИЙ: СИСТЕМЫ РЕГУЛЯЦИИ В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ И CO_2-СРЕДЫ

ROS of plant mitochondria: regulatory systems under hypoxia and CO_2-media

Ершова А.Н.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный педагогический университет», Воронеж, aershova@vspu.ac.ru

Ранее нами было установлено наличие четкой корреляции между степенью устойчивости растений к гипоксии, скоростью свободнорадикальных процессов, накопления разных типов АФК и активностью антиоксидантных ферментов в тканях растений гороха и сои (Ершова и др., 2011; Ershova, 2014). Было отмечено, что на первых этапах действия гипоксического стресса в клетках растений в большей степени повышалась активность каталазы как у устойчивых проростков сои, так и у неустойчивых проростков гороха. На более поздних этапах действия гипоксии у данных растений функция защиты от избыточного накопления АФК переходила к ферментам пероксидазной группы. Обнаружена важная роль липоксигеназы в процессах накопления АФК в первые часы действия гипоксического стресса и отмечена специфичность действия CO_2-среды на растения (Ершова, 2007). Однако вклад отдельных клеточных компартментов в процессы накопления АФК в клетках растений в условиях гипоксии исследован в меньшей степени (Blokhina, 2010), а для CO_2-среды такие работы не проводились.

Исследовали скорость свободнорадикальных процессов в клетках 10-дневных проростков гороха и сои, помещенных на 3-24 ч в условия гипоксии или CO_2-среду (100%) в затемненных вакуум-эксикаторах. Митохондрии и хлоропласты из проростков выделяли методом дифференциального центрифугирования. Чистоту выделенных фракций контролировали по маркерным ферментам (сукцинатдегидрогеназа) и хлорофиллу. Содержание пероксида водорода в клеточных компартментах определяли энзиматическим путем, супероксидных анион-радикалов, активность ферментов липоксигеназы и супероксиддисмутазы – спектрофотометрически, скорость свободнорадикального окисления-методом хемилюминесценции. Электрофоретическое определение липоксигеназы в митохондриях, хлоропластах и цитоплазме растений проводили в ПААГ, используя специфическое окрашивание в присутствии линолевой кислоты по методу (Heydeck, 1985).

Показано, что у неустойчивых проростков гороха скорость свободнорадикального окисления, определенное методом хемилюминесценции, во всех клеточных компартментах, включая митохондрии и хлоропласты, при гипоксии постоянно возрастала и к концу опыта была в 1,5-2,5 раза выше, чем у аэрируемых растений. Усиление скорости свободнорадикальных процессов у среднеустойчивых проростков сои происходило, но только в первые часы опыта и, только, в цитоплазме. Накопление супероксидных анион-радикалов и пероксида водорода при действии гипоксического стресса отмечалось как в митохондриях ,так и в хлоропластах проростков гороха. В меньшей степени это было характерно для растений сои. Методом электрофореза подтверждено наличие митохондриальной формы липоксигеназы в проростках гороха и сои, которая по величине Rf значительно отличалась от хлоропластной и цитоплазматической молекулярных форм данного фермента и составляла 0,72 для обоих растений. Активность липоксигеназы митохондрий подавлялась специфическим ингибитором SHAM (0,5 мМ). Обнаружено, что активность митохондриальной липоксигеназы возрастала на 20-50%- в первые 3 ч действия гипоксии на растения и это способствовало усилению образования АФК в этих клеточных компартментах. При действии CO_2-среды активность липоксигеназы возрастала более, чем в два раза, как у проростков гороха, так и сои, однако к концу опыта она падала. Активность хлоропластной и цитоплазматической форм липоксигеназы повышались в этих условиях только в клетках неустойчивых растений гороха, но не сои. Обнаружено, что активность антиоксидантного фермента СОД существенно возрастала при гипоксии во всех клеточных компартментах только у более устойчивых проростков сои, а у растений гороха это происходило лишь в митохондриях.

Полученные данные подтверждают наличие прямой зависимости между устойчивостью растений к гипоксии и скоростью свободнорадикальных процессов, протекающих в митохондриях и цитоплазме растений в условиях кратуовременной гипоксиихлоропластах. Впервые показана важная роль липоксигеназного пути в процессах образование АФК в митохондриях растений в условиях дефицита кислорода. Отмечено, что высокие концентрации CO_2 усиливали эффекты гипоксии на образование АФК и активность ферментов липоксигеназы и супероксиддисмутазы как у неустойчивых проростков гороха, так и более устойчивых растений сои, что подтверждает высказанное ранее мнение (Ершова, 1996) о специфичности действия данного компонента газовой среды не только нана метаболические процессы растений, включая и процессы накопления АФК.

ОСОБЕННОСТИ ПРЕПОДАВАНИЯ КУРСА «ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ» В ПЕДАГОГИЧЕСКИХ ВУЗАХ В УСЛОВИЯХ ПЕРЕХОДА НА ФГОС 3

Aspects of teaching "Plant Physiology" course in pedagogical universities under transition to FSES 3.

Ершова А.Н.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный педагогический университет», Воронеж, aershova@vspu.ac.ru

В соответствии с государственным образовательным стандартом ФГОС3 в учебные планы «Биология» педагогических вузах включена дисциплина «Физиология растений», на которую отводится 7 зачетных единиц. «Физиология растений» относиться к обязательным дисциплинам вариативной части профессионального цикла (Б3.В.ОД.4). изучение данной дисциплины является логическим продолжением курса «Ботаника» и проходит в 6-7 семестрах. Цели, которые решает данная дисциплина включают: изучение функционирование растительной клетки, молекулярные аспекты дыхательного метаболизма растений, этапов фотосинтеза, водного и минерального питания растений, а также роли фитогормонов в процессах роста и развития растений. в процессе освоения данной дисциплины у студентов формируются ряд специальных компетенций. Студент должен владеть основными биологическими понятиями (СК-1), способен объяснять молекулярные основы биологических процессов и физиологические механизмы работы различных систем и органов растений (СК-3), способен понимать принципы устойчивости живых организмов и пути их изменения под влиянием антропогенных факторов (СК-6), способен к самостоятельному проведению исследований, использованию информационных технологий для решения научных и профессиональных задач (СК-8).

В структуре преподавания данной дисциплины на лекции отводятся до 40% аудиторных занятий, а остальное приходится на лабораторный практикум. Для успешного проведения лабораторного практикума на кафедре биологии растений и животных было разработано и опубликовано учебное пособие «Лабораторный практикум по физиологии растений» (Ершова А.Н. и др., Воронеж 2015). В данном практикуме кроме описания каждой лабораторной работы и хода ее выполнения, приведены вопросы для контроля самостоятельной работы студентов. В конце изучения каждой темы курса даются вопросы для коллоквиума, а также ряд задач, решение которых поможет оценить уровень освоения студентами изученного материала по данной теме. В конце практикума приводится глоссарий терминов и понятий, который поможет студентам для ориентации в изучаемом, на лабораторных занятиях, материале. Перечень лабораторных работ может подбираться преподавателем самостоятельно с учетом возможностей учебной лаборатории, а также отводимого для занятий по учебному плану времени.

Одним из важных компонентов освоения дисциплины «Физиология растений» является написание курсовых работ. Тематика курсовых работ предполагает углубленное изучение материала студентами одного из раздела данной дисциплины. Тематика курсовых работ утверждается на заседании кафедры ежегодно и вывешивается на доске объявлений. Это помогает студентам сориентироваться и выбрать для себя наиболее интересную тему. Кроме теоретических работ студентам предлагаются и экспериментальные исследования, которые можно провести на базе научно-исследовательской лаборатории кафедры по метаболической адаптации растений. Для выполнения подобных работ в лаборатории имеется современное оборудование (спектрофотометр, хемилюминометр, низко и высокоскоростные центрифуги, наборы для гель-хроматографии и электрофореза). Для работы студенты прикрепляются к аспирантам и магистрантам кафедры. Выполнение экспериментальных курсовых работ позволяют студентам освоить современные методы физиолого-биохимического анализа растений, которые будут им необходимы при обучении в магистратуре и проведении научно-исследовательских работ на базе школьных научных объединений.

В учебных планах педагогических университетах предусмотрена полевая практика по курсу «Физиология растений», которая проводиться в летний период. Именно ей отводится большая роль не только в углублении знаний студентов по данному курсу, но и дается возможность применения своих знаний по исследованию ряда физиологических процессов (ростовых процессов, водного обмена, фотосинтеза и.т.д.) у растений произрастающих в естественной среде обитания. При этом студенты могут и изучить зависимость физиологических процессов растений от постоянно изменяющихся условий среды. Для проведения такой практики на кафедре был разработан физиологический участок, который функционировал на территории агробиостанции университета боле пятнадцати лет. В связи с переходом на учебные планы ФГОС 3+ полевая практика по данной дисциплине, к сожалению, исчезает.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПРОТЕКТОРНОГО ЭФФЕКТА ОСНОВНЫХ КЛАССОВ БРАССИНОСТЕРОИДОВ ПРИ ХЛОРИДНОМ ЗАСОЛЕНИИ

The comparative analysis of the protective effect of the main brassinosteroids under salt stress

Ефимова М.В.[1], Малофий М.К.[1], Хрипач В.А.[2], Кузнецов Вл.В.[3]

[1] *Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия*
stevmv555@gmail.com
[2] *Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*
[3] *Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия*

Повышение устойчивости растений к действию абиотических стрессоров, в том числе и к засолению, во многом определяется факторами гормональной природы. Брассиностероиды являются перспективными стероидными гормонами растений, проявляющими защитное действие в сравнительно низких концентрациях. В основном, исследователи оценивают протекторное действие брассинолида или 24-эпибрассинолида в условиях действия стресса. Мы остановили свой выбор на стероидных гормонах, отличающихся не только по количеству атомов углерода в молекуле – С28 (брассинолид (БЛ), 24-эпибрассинолид (ЭБЛ)) и С29 (28-гомобрассинолид, ГБЛ), но и по конфигурации заместителей в боковой цепи – 24S-метил (брассинолид), 24R-метил (24-эпибрассинолид) и 24S-этил (28-гомобрассинолид). Особое внимание в ходе данных исследований было уделено представителям группы кастастеронов – 24-эпикастастерону (ЭК). Концентрация NaCl составляла 175 мМ. Исследования проводили на проростках рапса *Brassica napus* L. сорта Вестар. Ростовые показатели проростков рапса (длина гипокотиля и корня), содержание фотосинтетических пигментов и пролина оценивали на 3.5 и на 7 сутки после начала эксперимента. Эффект гормонов (концентрация 10^{-9} -10^{-7} М) оценивали в темноте и на белом свету (21 мкмоль/($м^2$с); 16/8 ч, 22±2°С).

Установлено, что величина негативного эффекта засоления на развитие проростков зависела от условий произрастания и продолжительности действия стрессора. Максимальное повреждающее воздействие интенсивного засоления отмечено на белом свету. В темноте на 3,5 сутки наибольшей чувствительностью к засолению отличались гипокотили, в то время как на белом свету ингибирующий эффект засоления был сходным для гипокотиля и корня проростков рапса. Через 7 суток после начала эксперимента максимальное подавление роста осевых органов было отмечено на белом свету. Интенсивное хлоридное засоление приводило к снижению накопления хлорофиллов *a* и *b* в 3.1 раза, каротиноидов в 2,4 раза через 3,5 суток воздействия, на 7 сутки негативный эффект засоления значительно снижался. В темноте содержание пролина на 3,5 и 7 сутки опыта превышало контрольный уровень в 5 раз; на белом свету эффект засоления зависел от продолжительности его воздействия; на 3,5 сутки содержание пролина было в 9 раз, на 7 сутки в 22 раза выше, чем в контроле.

Защитный эффект стероидных гормонов определялся их химической структурой, действующей концентрацией, условиями освещения и продолжительностью воздействия NaCl. Самая низкая протекторная активность при интенсивном хлоридном засолении показана для 28-гомобрассинолида; на 3,5 сутки гормон не изменял ростовые и физиологические показания проростков, на 7 сутки наблюдалось незначительное снижение отрицательного влияния соли. Эпикастастерон наибольшее защитное действие при интенсивном хлоридном засолении проявлял на белом свету. Самой эффективной оказалась концентрация гормона 10^{-7} М. Высокий протекторный эффект при длительном засолении на белом свету демонстрировал брассинолид в концентрациях 10^{-9} и 10^{-8} М; при кратковременном действии засоления использование БЛ было неэффективным. Наибольшее защитное действие при продолжительном засолении как в темноте, так и на свету показано для ЭБЛ вне зависимости от выбранной нами концентрации. Наибольший протекторный эффект в отношении ростовых показателей проростков рапса отмечен в концентрациях 10^{-9} и 10^{-7} М. При этом содержание всех групп фотосинтетических пигментов, вне зависимости от концентрации гормона, восстанавливалось до контрольных значений.

Таким образом, нами установлено, что проявление негативного эффекта NaCl характеризуется не только интенсивностью солевого воздействия, но и напрямую зависит от наличия или отсутствия освещения. Впервые выявлено, что наибольший протекторный эффект при интенсивном засолении проявлял ЭБЛ, затем следовали БЛ, ЭК и ГБЛ.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 14-04-90032 Бел_а), БРФФИ (грант № Х14Р-139).

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ПОВЫШЕНИЯ СОЛЕУСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ РАПСА 24-ЭПИБРАССИНОЛИДОМ

Physiological mechanisms of enhancing salt tolerance of oilseed rape plants with 24-epibrassinolide

Ефимова М.В.[1], Хасан А.К.[2], Куртикова А.Л.[3], Хрипач В.А.[3], Литвиновская Р.П.[3], Холодова В.П.[2], Кузнецов Вл.В.[2]

[1] *Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия*
stevmv555@gmail.com
[2] *Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия*
[3] *Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

Изучены физиологические механизмы защитного действия брассиностероида 24-эпибрассинолида (ЭБЛ) при хлоридном засолении. Эффект гормона оценивали по его способности снижать негативное влияние высокой концентрации NaCl на рост и развитие растений рапса и ряд показателей, характеризующих особенности водного статуса и проявления окислительного стресса у растений (накопление фотосинтетических пигментов, содержание пролина, флавоноидов, малонового диальдегида, осмотический потенциал клеточного сока и гомеостаз ионов). Наряду с изучением стрессорной реакции у растений в ответ на засоление, было оценено эндогенное содержание стероидных гормонов – суммарное содержание 24-эпибрассиностероидов (24-эпибрассинолида и 24-эпикастастерона), 24S-метилбрассиностероидов (брассинолида и кастастерона) и 28-гомобрассиностероидов (28-гомобрассинолида и 28-гомокастастерона).

Семена рапса (*Brassica napus* L.) с. Вестар проращивали в перлите на дистиллированной воде в течение 5 суток и переносили на жидкую питательную среду Хогланда-Снайдера для последующего культивирования (белый свет, плотность потока падающих квантов – 170 мкмоль/($м^2$с); фотопериод 16 ч, температура воздуха 22±2°С). До начала воздействия NaCl растения выращивали в указанных условиях в течение 3 недель; спустя 3 недели в среду выращивания опытных растений добавляли 175 мМ NaCl или 10^{-10} М 24-эпибрассинолида или NaCl и 24-эпибрассинолида. Контрольные растения росли на стандартной среде. Питательную среду меняли каждую неделю. Фиксацию растительного материала для анализов проводили через одну и две недели после добавления NaCl и(или) 24-эпибрассинолида.

Полученные данные свидетельствуют о том, что брассиностероиды проявляли выраженный протекторный эффект на растениях рапса в условиях засоления. При этом хлоридное засоление стимулировало накопление анализируемых нами эндогенных стероидных гормонов. В основе защитного действия брассиностероидов при солевом стрессе, очевидно, лежит их способность предотвращать разрушение фотосинтетических пигментов и стимулировать аккумуляцию низкомолекулярных фенольных соединений, тем самым понижая интенсивность окислительного стресса. Другой, весьма неожиданной, способностью брассиностероидов явилось ограничение поступления токсических ионов натрия в клетки растений и сопряженное с ним поддержание повышенного уровня ионов калия. Оказалось, что в этих условиях внесение ЭБЛ совместно с NaCl позволило растениям снизить энергетические и структурные затраты на биосинтез пролина, что также способствовало повышению устойчивости растений рапса к засолению.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 14-04-90032 Бел_а), БРФФИ (грант № Х14Р-139).

ИНДУКЦИЯ ФОРМИРОВАНИЯ КУЛЬТУРЫ HAIRY ROOTS У ВИДОВ РОДА *NITRARIA*, ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ *AGROBACTERIUM RHIZOGENES* КАК ПРОДУЦЕНТОВ БАВ

Induction of the hairy root cultures formation for *Nitraria* species transformed by *Agrobacterium rhizogenes* as producers of biologically active substances

Железниченко Т.В., Воронкова М.С., Новикова Т.И., Банаев Е.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Центральный сибирский ботанический сад Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия; zhelez05@mail.ru

Селитрянки – это галофитные засухоустойчивые кустарники, обладающие лекарственными свойствами. Листья, плоды и семена некоторых видов часто используются в народной медицине в качестве спазмолитического, антинейропатического и антиаритмического средства. Экстракты свежих листьев применяются при отравлениях, расстройствах и язвах желудка, гастритах, энтеритах, изжогах, колитах, заболеваниях толстой кишки. Селитрянки богаты алкалоидами и фенольными соединениями. В результате недавних исследований была показана перспектива их использования при лечении рака, в частности лейкемии. В связи с тем, что эти растения трудно воспроизводятся и являются редкими, существует необходимость в разработке биотехнологических приемов культивирования *in vitro* с сохранением в них биосинтеза биологически активных веществ (БАВ). Одним из методов активации биосинтеза является трансформация растений грамотрицательной почвенной бактерией *Agrobacterium rhizogenes*, в результате чего формируется культура «бородатого корня», или «hairy roots». Цель работы заключалась в *A. rhizogenes*-опосредованной трансформации *Nitraria sibirica* и *Nitraria schoberi,* получении стабильно-растущей культуры «hairy roots» и первичном анализе образцов на содержание БАВ. Гипокотили, семядоли и первичные листья стерильных двухнедельных проростков, выращенных в культуре *in vitro*, трансформировали штаммами: A4-RT; R-1601; 8196-RT; 15834 SWISS *A. rhizogenes*, любезно предоставленными Кузовкиной И.Н (ИФР РАН, Россия). Экспланты инокулировали в течение суток в жидкой питательной среде MS, содержащей суспензию агробактерий *A. rhizogenes* двухсуточного возраста, затем для проявления трансформации помещали на агаризованную среду MS или BDS с добавлением цефотаксима (500мг/л) и культивировали в условиях пониженного освещения. Образовавшиеся бородатые корни переносили в жидкие питательные среды: ½ MC, MC, B_5, Стрита (S), BDS без регуляторов роста. Трансформанты идентифицировали по морфологическим характеристикам. Культуры анализировали на протяжении пяти пассажей, длительнойсть пассажа – 4 недели. Анализ индивидуальных фенольных соединений проводили на аналитической ВЭЖХ-системе, состоящей из хроматографа «Agilent 1200» с диодноматричным детектором и системы ChemStation. Разделение проводили на колонке Zorbax SB-C18. Отмечено, что эффективность трансформации зависела от используемого штамма, типа экспланта и видовой принадлежности культур. Появление адвентивных корней у *N. sibirica* наблюдалось при использовании штаммов A4-RT; R-1601; 8196-RT через две недели инкубации. Инокуляция штаммом 8196-RT оказалась наименее эффективной. Бородатые корни образовались только на семядолях, частота трансформации составила 20%, а на остальных эксплантах наблюдалось только побегообразование. При использовании штамма R-1601 частота трансформации семядолей составила 75%, а первичных листьев - 33,3%. Количество корней на эксплант варьировало от 1 до 4, а длина корней составляла в среднем не более 2 см. Трансформация *N. schoberi* была эффективной, применяя штаммы 8196-RT и 15834 SWISS. Появление «бородатых корней» отмечали через неделю инкубации. При использовании штамма 15834 SWISS частота трансформации семядолей и гипокотелей равнялась 33%, а первичных листьев - 76,92%. Инокуляция штаммом 8196-RT была наиболее эффективной, частота трансформации семядолей составляла 62,5%, а первичных листьев – 100%. Наблюдалось образование интенсивно ветвящихся корней, их количество на экстплант достигало 11, а длина в среднем - 6 см. Культивирование «hairy roots» на жидких питательных средах ½ MC, MC, B_5, S не дало положительных результатов. Прироста корней практически не наблюдалось и они погибали. Используя питательную среду BDS удалось получить стабильно растущую культуру “hairy roots” из листовых эксплантов *N. schoberi.* Прирост сырой биомассы корней оценивали, используя индекс роста (ИР). Установлено, что прирост возрастал с каждым последующим пассажем и во время первого пассажа увеличился в 20 раз, а во время пятого – в 42 раза. Количественное содержание компонентов в элюатах проводили по методу внешнего стандарта в пересчете на кверцетин. Методом ВЭЖХ в гидролизатах экстрактов корней *Nitraria schoberi,* сопоставлением времен удерживания сигналов веществ на хроматограммах анализируемых образцов с временами удерживания сигналов стандартных образцов и спектров удалось идентифицировать (±)-катехин и L-(-)-эпикатехин. Показано, что при четырехнедельном культивировании содержание этих компонентов увеличивается с каждым последующим пассажем.

Таким образом, установлено, что самым эффективным агробактериальным штаммом для *N. sibirica* является *A. rhizogenes* R-1601, а для *N. schoberi* - 8196-RT. *N. schoberi* – более отзывчива к трансформации. Наиболее предпочтительным эксплантом для трансформации у селитрянки сибирской являются семядоли (20-75%), а у селитрянки шобера – первичные листья (76,9-100%). Максимальное суммарное содержание катехинов в исследованных образцах достигало 0,26%.

СЕЗОННЫЕ И СУТОЧНЫЕ РАЗЛИЧИЯ СОДЕРЖАНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЛИСТЬЯХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

Seasonal and daily variation of phenolic compound in the leaves of medicinal plants

Живетьев М.А., Путилина Т.Е., Дударева Л.В., Кириченко К.А., Любушкина И.В., Граскова И.А., Войников В.К.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия; nik.19@mail.ru

Растения подвергаются значительному воздействию условий окружающей среды, и в первую очередь температуры, изменяющейся не только в течение года, но и в течение суток. На территории Сибири такие перепады особенно выражены и достигают вне зависимости от времени года 15-20ºС в сутки, что не может не влиять на вторичный метаболизм растений. Из вторичных метаболитов наиболее значимыми являются фенольные соединения, в частности – флавоноиды.

Флавоноиды – это антиоксиданты и дубильные вещества. Ряд флавоноидов обладает антибактериальным действием. В качестве лекарственных средств применяются флавоноиды рутин и кверцетин, называемые Р-витаминами. В свою очередь витамины выполняют каталитическую функцию в составе активных центров разнообразных ферментов, а также могут участвовать в гуморальной регуляции в качестве экзогенных прогормонов и гормонов.

В связи с этим, целью наших исследований было изучить изменения общего содержания фенольных соединений и качественного состава флавоноидов в листьях и соцветиях двух видов лекарственных растений: манжетки городковатой *Alchemilla subcrenata* Buser и вероники дубравной *Veronica chamaedrys* L. в условиях суточных перепадов температур атмосферного воздуха летом и ранней осенью. Пробы отбирались в 9^{00}, 14^{00} и 21^{00} 25 июня, 15 августа и 19 сентября 2013 г. и фиксировались жидким азотом. Общее содержание фенольных соединений после экстракции метанолом и этилацетатом определяли спектроскопическим методом с помощью реактива Фолина-Дениса. Качественный состав экстракта исследовали методом ВЭЖХ. Идентификацию полученных пиков проводили путем сравнения их УФ-спектра с базами данных в программе Мульти-Хром-СПЕКТР для Windows.

Динамика общего содержания фенольных веществ демонстрировала не только тканевую, но и видовую специфичность. Так, 25 июня у вероники дубравной содержание фенольных соединений в соцветиях было стабильно выше, чем в листьях, однако динамика изменений их содержания была сходной. Максимум приходился на 9^{00} (4,22 и 4,10 мг/г сырого веса для соцветий и листьев, соответственно), после чего наблюдалось уменьшение их содержания в течение дня (2,79 и 2,29 мг/г в 14^{00} и 2,30 и 1,69 мг/г в 21^{00}). Соцветия манжетки городковатой продемонстрировали стабильно высокие содержания фенольных соединений (от 3,95 мг/г сырого веса утром до 3,12 мг/г вечером), в то время как в листьях этого растения в 15^{00} наблюдали скачкообразное увеличение содержание флавоноидов (5,31 мг/г) с последующим минимумом в 21^{00} (1,25 мг/г) (при исходном содержании в 9^{00} 3,28 мг/г). Если в теплое время года для листьев манжетки городковатой характерен суточный максимум днем (5,31 в июле и 8,13 мг/г 15 августа), то в сентябре после полудня наблюдается, наоборот, суточный минимум (2,43 мг/г). Для листьев вероники дубравной картина несколько иная: в августе максимум – в 14^{00} (2,03 мг/г), а в июне и сентябре высокое содержание флавоноидов приходится на 9^{00} (4,10 и 4,84 мг/г) и постепенно снижается к вечеру в течение дня до 1,69 и 2,06 мг/г, соответственно.

Полученные результаты иллюстрируют сильную вариабельность общего содержания фенольных соединений в зависимости от времени суток и сезона года, вида и органа растения.

Кроме того, методом ВЭЖХ было показано, что в течение периода вегетации и даже в течение одних суток происходят изменения и в составе фенольных соединений и флавоноидов. Это детектируется изменением количества пиков и появлением соединений, не регистрируемых в другое время суток. Например, кемпферол 3-б-D-глюкопиранозид в листьях манжетки обнаруживался только днем в августе и сентябре, и отсутствовал в июне, а кверцетин – вечером в июне и августе. Следует отметить, что спектр флавоноидов, свойственный манжетке, ограничивается 21-32 соединениями, а для вероники характерно наличие 33-44 соединений во всех изученных частях растения. Уменьшение общего содержания фенольных соединений в листьях или соцветиях исследованных растений нередко сопровождалось увеличением их разнообразия в растительных тканях.

Необходимость изучения лекарственных растений в Прибайкалье возрастает с учетом серьезных изменений в содержании флавоноидов в зависимости от района произрастания. Суточная и сезонная динамика лекарственных компонентов важна для научного обоснования оптимальных сроков и времени сбора растительного сырья применительно к конкретному региону.

УСТОЙЧИВОСТЬ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА К НЕДОСТАТОЧНОМУ УВЛАЖНЕНИЮ ОПРЕДЕЛЯЕТСЯ АКТИВНОСТЬЮ I КОМПЛЕКСА ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ МИТОХОНДРИЙ.

Resistance of pea seedlings to insufficient watering is determined by the activity of complex I of mitochondrial respiratory chain

Жигачева И.В., Бурлакова Е.Б., Мишарина Т.А., Тренина М.Б., Крикунова Н.И

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук, Москва, Россия; zhigacheva@mail.ru

Развитие и выживание растений в любых условиях гораздо сильнее зависит от доступности воды, чем от какого-либо иного фактора внешней среды. Водный дефицит модифицирует клеточные мембраны и мембраны органелл, влияя на их функции и метаболизм клетки. Изменения происходят в липидной фракции мембран: снижается содержание ненасыщенных жирных кислот, что отражается на активности ферментов, образующих с мембранами единый комплекс, и, прежде всего, ферментов дыхательной цепи митохондрий. Известно, что регуляторы роста и развития растений повышают устойчивость растений, как к биотическому, так и к абиотическому стрессу, в том числе и к водному дефициту. Такими регуляторами роста являются мелафен, (меламиновая соль бис-(оксиметил)-фосфиновой кислоты) и его пиримидиновый аналог пирафен (соль бис-(оксиметил)-фосфиновой кислоты 2,4,6-триаминопиримидин.

Целью данного исследования было изучение влияния недостаточного увлажнения и обработки семян гороха 2×10^{-12}М мелафеном или 10^{-13}М пирафеном на биоэнергетические показатели 6-дневных этиолированных проростков гороха (*Pisum sativum* L.), сорт Альфа. Недостаточное увлажнение приводило к изменению жирнокислотного состава липидной фракции мембран митохондрий. При этом наиболее сильные изменения происходили в содержании жирных кислот с 18 и 20 атомами углерода. Так относительное содержание 18:2 ω6 снижалось на 11%, содержание 18:3 ω3 – на 19%, в то время как содержание 18:0 возрастало на 41%. Значительные изменения наблюдались и в относительном содержании жирных кислот с 20 атомами углерода. Пул 20:2 ω6 снижался в 2,7 раза, 20:1 ω 9 – в 1,4 раза и 20:1 ω7 – в 1,3. В то же время содержание 20:0 возрастало более чем в 2 раза.

Изменение жирнокислотного состава мембран митохондрий сопровождалось 1,5-кратным снижением максимальных скоростей окисления НАД-зависимых субстратов и 30% снижением эффективности окислительного фосфолрилирования. Обработка семян 2×10^{-12} М мелафеном предотвращала преобразования в жирно-кислотном составе мембран проростков, вызванные недостатком влаги и предупреждала изменения биоэнергетических характеристик митохондрий. В то же время 10^{-13} М пирафен почти не оказывал защитного действия на содержание ненасыщенных C_{18} жирных кислот, но предотвращал изменения в содержании ненасыщенных C_{20} жирных кислот. Обработка семян пирафеном почти не влияла на максимальные скорости окисления НАД-зависимых субстратов митохондриями проростков в условиях недостаточного увлажнения, но эффективность окислительного фосфорилирования возрастала на 15%.

Изменения физико-химических свойств мембран, приводящие к дисфункции митохондрий, отражались и на физиологических показателях, а именно, на росте проростков. Обработка семян гороха мелафеном или пирафеном приводила к стимуляции роста корней в условиях недостаточного увлажнения в 5 и 1,75 раз соответственно. При этом пирафен почти не оказывал влияния на рост побегов, в то время как мелафен стимулировал рост побегов в 3,5 раза. Между коэффициентом ненасыщенности C_{18} жирных кислот в мембранах митохондрий и длиной корней проростков наблюдалась корреляция с коэффициентом корреляции $r = 0{,}9077$, и между коэффициентом ненасыщенности C_{20} жирных кислот и длиной корней проростков - коэффициент корреляции $r = 0{,}8949$.

Таким образом, рост содержания ненасыщенных жирных кислот, в частности C_{18} и C_{20} кислот в мембранах митохондрий проростков приводил к повышению устойчивости растений к недостаточному увлажнению. При этом коэффициент ненасыщенности C_{18} жирных кислот, тесно коррелировал с максимальными скоростями окисления - НАД-зависимых субстратов, которые в первую очередь определяются содержанием линолевой кислоты в липидной фракции мембран митохондрий. Мы можем предположить, что слабый защитный эффект комплексаI дыхательной цепи митохондрий пирафеном, очевидно, связан с тем, что он не предотвращает перекисное ненасыщенных жирных кислот, содержащих 18 атомов углерода в мембранах митохондрий проростков в условиях недостаточного увлажнения

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ФИКСАЦИЯ АЗОТА У ИЗОГЕННЫХ ПО ГЕНАМ *VRN* ЛИНИЙ ПШЕНИЦЫ (*TRITICUM AESTIVUM* L.) И ПО ГЕНАМ *EE* ЛИНИЙ СОИ (*GLYCINE MAX* (L.) MERR.)

Biological nitrogen fixation of wheat isogenic by VRN genes lines (*Triticum aesrivum* L.) and soybean isogenic by EE genes lines (*Glycine max* (L.) Merr.)

Жмурко В.В., Самойлов А.М., Попова Ю.В.

Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, Харьков, Украина; v_zhmurko@mail.ru

Биологическая фиксация азота – сложный физиолого-биохимический процесс, который протекает под контролем факторов внешней среды, генетических систем растения и микроорганизмов-азотфиксаторов. Изучение процесса ассоциативной фиксации азота у пшеницы проведено, как правило, в опытах с сортами, в которых показана ее зависимость от генотипа сорта. Результаты опытов с бобовыми растениями показали, что интенсивность симбиотической фиксации также определяется генотипом сорта. Вместе с тем результаты этих опытов не позволяют сделать вывод об участии конкретных генов растения в процессах ассоциативной и симбиотической азотфиксации. Для решения этого вопроса наиболее адекватными моделями могут служить почти изогенные (NIL's) линии, у которых идентифицированы конкретные гены, детерминирующие определенные признаки. К ним относятся изогенные по генам *VRN* линии пшеницы мягкой, у которых эти гены определяют тип развития (яровой/озимый), а также изогенные по генам *EE* линии сои, которые определяют у этой культуры продолжительность периода всходы-цветение и реакцию на фотопериод. Эти линии используются на кафедре физиологии и биохимии растений и микроорганизмов ХНУ им. В.Н. Каразина для выявления возможного участия генов *VRN* и *EE* в процессах регуляции физиолого-биохимических процессов, посредством чего могут реализоваться фенотипические эффекты этих генов на темпы развития растений. Преимущество линий как моделей состоит в том, что они созданы в генофоне одного сорта (линии пшеницы в генофоне сорта Мироновская 808, линии сои в генфоне сорта Clark). Поэтому они различаются между собой только по состоянию конкретного локуса генов *VRN* или *EE* (доминантное/рецессивное), что позволяет с достаточной степенью вероятности судить об их эффектах на тот или иной признак или физиолого-биохимический процесс.

Целью данного исследования было выявление эффектов корневых выделений изогенных по генам *VRN* линий пшеницы на рост и хемотаксис специфичного для пшеницы ассоциативного азотфиксатора *Azospirillum brasilense*, а также эффектов генов *EE* сои на нитрогеназную активность у изогенных по этим генам линий в условиях разного фотопериода.

Рост и хемотаксис *A. brasilense* (штамм 410, получен из коллекции ИФР и Г НАН Украины) определяли на корневых выделениях изолиний пшеницы ярового типа развития (доминантые аллели *VRN-A1a, VRN-B1a* и *VRN-D1a*), а также озимого сорта Мироновская 808, в генофоне которого созданы линии (все аллели *VRN* у сорта рецессивны). Результаты показали, что наибольшую и практически одинаковую массу бактерия накапливала на безазотистой питательной среде с корневыми выделениями линий *VRN-A1a* и *VRN-D1a*, а наименьшую – с корневыми выделениями линии *VRN-B1a*. Корневые выделения сорта стимулировали рост бактерии в большей мере, чем экссудаты линии *VRN-B1a*, но существенно меньше, чем экссудаты линий *VRN-A1a* и *VRN-D1a*. Хемотаксис наибольшим был к корневым выделениям линии *VRN-D1a*, а наименьшим – к корневым выделениям сорта. На корневых выделениях линии *VRN-B1a* хемотаксис был меньшим, чем на выделениях линии *VRN-D1a*, почти таким же, как на выделениях линии *VRN-A1a*, но большим, чем на выделених сорта. Нами ранее показано, что линии *VRN* отличаются по интенсивности углеводного обмена, активности ферментов и фитогормональному статусу, в зависимости от состояния локусов этих генов, что по нашему мнению, может свидетельствовать об их участии в регуляции физиолого-биохимических процессов. Вероятно, эффекты корневых выделений изолиний на рост и хемотаксис *A. brasilense* могут быть связаны с различиями между линиями по количеству и составу корневых выделений, которые определяются различиями между линиями по интенсивности и характеру метаболических процессов в зависимости от состояния генов *VRN*. У короткодневных (локусы *E1E2E3* и *E1e2e3*) и фотопериодически нейтральных (локусы *e1e2E3*, *e1E2e3* и *e1e2e3*) изолиний сои сорта Clark исследовали нитрогеназную активность (НА) в условиях разного фотопериода. Растения выращивали в поле на естественном длинном дне (16 ч на широте Харькова) и коротком дне (9 ч), затемняя растения светонепроницаемыми кабинами с 18 до 9 ч. Результаты трехлетних опытов показали, что исследованные линии различались по уровню НА, в зависимости от состояния локусов *EE*, как в условиях длинного, так и в условиях короткого дня. Под влиянием короткого дня у всех линий НА снижалась. Различия между линиями по уровню НА, в зависимости от состояния локусов генов *EE*, могут свидетельствовать об их участии в регуляции симбиотический азотфиксации. Снижение НА на коротком дне, по-видимому, связано с уменьшением в этих условиях оттока ассимилятов в корневую систему, что снижает обеспеченность функционирования *Bradyrhizobium japonicum* энергетическим материалом, что, как следствие, проявляется в понижении НА.

ПОГЛОЩЕНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И ИХ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ В РАСТЕНИЯХ, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В ОКРЕСТНОСТЯХ КАЧКАНАРСКОГО ГОК

Uptake of Heavy Metals and Their Distribution in Plants From the Environs of Kachkanar Mining and Processing Plant

Жуйкова Е.В., Киселева И.С., Лешукова Л.А.

ФГАОУ ВПО «Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина», Екатеринбург, Россия; Irina.Kiseleva@urfu.ru

Ежегодно в результате работы горнодобывающей промышленности огромные территории выбывают из хозяйственного землепользования. При этом в отвалы переносятся породы и отходы производства с потенциально повышенной концентрацией микроэлементов. Необходимость снижения их отрицательного влияния на окружающую среду поставила перед исследователями задачу по изучению адаптаций живых организмов к условиям нарушенных земель. Цель нашего исследования: изучить минеральный состав почв и рудеральных растений из фоновых и нарушенных местообитаний в районе Качканарского ГОК.

Исследование проводили в двух зонах хвостохранилища мокрой магнитной сепарации Качканарского ГОК (суммарный индекс токсической нагрузки территорий Si = 2,65-4,62). В качестве контрольной зоны был выбран участок близ п. Шуркино (Si = 1,5).

Отбор почвенных образцов проводили методом конверта с глубины 10 см. Сбор растений (надземную и подземную части) *Taraxacum officinale* Wigg. и *Plantago media* L. осуществляли в фазе цветения (по 10 растений каждого вида из каждой зоны). Обмытые, высушенные листья и корни измельчали, просеивали через сито (диаметр ячеек 1 мм) и использовали для химического анализа. Содержание тяжелых металлов определяли после мокрого озоления образцов методом атомно-сорбционного спектрального анализа. В почве и шламе определяли содержание подвижных форм меди и цинка в ацетатно-аммонийной вытяжке. Растительные образцы анализировали после минерализации в азотной кислоте с добавлением пероксида водорода.

Коэффициент биологического накопления (КБН) рассчитывали как отношение концентрации иона в растении к концентрации его подвижной формы в почве; коэффициент перехода (КП) определяли по отношению содержания иона в листьях к его содержанию в корнях; данные приведены в виде значений среднего и ошибки среднего.

Содержание подвижных форм меди и цинка в почве фоновой зоны составило 0,52±0,08 мкг/г и 6,11±1,83 мкг/г соответственно. В почвах техногенно нарушенных территорий концентрация ТМ возрастала и составляла в среднем 1,14±0,12 мкг/г для меди и 7,66±2,48 мкг/г для цинка. В органах растений содержание ионов металлов было тесно связано с их концентрацией в грунте в месте произрастания. Обнаружены почти двукратные различия концентрации ионов меди и цинка в корнях *T. officinale* по сравнению с *P. media*. Так, у *T. officinale* содержание меди варьировало от 12,29±1,35 мкг/г до 14,37±2,56 мкг/г, *а у P. media* от 32,65±3,05 мкг/г до 43,91±5,02 мкг/г. Содержание ионов цинка у одуванчика было от 28,85±2,54 мкг/г до 50,81±8,96 мкг/г, а у подорожника - от 45,32±6,13 мкг/г до 85,32±5,26 мкг/г.

Высокие значения КБН меди (19,87 для *T. officinale* и 56,83 для *P. media)* по сравнению с цинком (5,31 для *T. officinale* и 8,87 для *P. media),* вероятно, обусловлены низким содержанием в почве подвижных форм меди и высокой обеспеченностью почвы доступной формой цинка, с одной стороны, и потребностью в этих элементах, с другой. КБН меди у *P. media* существенно выше, чем у *T. officinale,* что свидетельствует о более эффективном поглощении подорожником ионов меди из почвенного раствора или о большей потребности в этом элементе в сравнении с одуванчиком.

Содержание ионов в листьях и расчет КП показал, что у *T. officinale* КП для меди был близок к единице (среднее значение - 1,44). Это указывает либо на низкую эффективность барьера корень/надземная часть, что важно для обеспечения листьев этим элементом, либо свидетельствует о слабом накоплении меди в корнях. КП для цинка >2 (среднее значение - 2,48), т.е. цинк интенсивно поступает из корня в надземную часть. У *P. media* КП для меди и цинка существенно меньше единицы (средние значения 0,41 и 0,48 соответственно). Это означает большую степень накопления металлов в корнях, что свидетельствует о высокой эффективности работы барьера корень/надземная часть.

Taraxacum officinale Wigg. и *Plantago media* L. имеют разные стратегии адаптации к избытку подвижных форм меди и цинка в грунте отвалов Качканарского ГОК. Наличие барьера для перемещения ионов меди и цинка «почва-корень» у одуванчика и «корень-побег» у подорожника позволяет этим видам выживать в условиях загрязнения среды тяжелыми металлами.

СРАВНЕНИЕ РОСТА И ДЕЛЕНИЯ КЛЕТОК В КОРНЯХ РАЗНЫХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ

Comparison of growth and division of root cells in various plant species

Жуковская Н.В., Быстрова Е.И., Иванов В.Б.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия
ivanov_vb@mail.ru, zhukovskayanv@rambler.ru

До последнего времени рост и деление клеток изучался на корнях только нескольких видов растений и большинство исследований проводились на корнях арабидопсиса. Поэтому важно понимать, в какой мере полученные результаты справедливы для корней других растений. Задачей данной работы являлось сравнение роста и деления клеток в корнях разных видов, отличающихся по размеру семян и гаплоидному содержанию ДНК. Всего было проанализировано более 100 видов. Измерены скорость роста корней после перехода к линейному росту и средний вес семян. На тонких живых корнях и на продольных срезах более толстых корней были измерены длины меристемы и зоны растяжения, диаметр корня в начале зоны растяжения, средние длины меристематических и закончивших рост клеток.

По результатам измерений вычислены: относительная скорость растяжения, число меристематических и растягивающихся клеток в одном ряду клеток коры, продолжительность митотического цикла, относительная скорость роста меристематических клеток, продолжительность роста клетки растяжением, время жизни клеток в меристеме и ряд других показателей. Результаты определения продолжительностей митотических циклов в корнях разных видов по использованному методу дали для подавляющего большинства видов такие же величины, как полученные с помощью тимидинового метода разными авторами. Это показывает, что длительность митотического цикла довольно устойчивая характеристика роста корня при данной температуре. Однако для некоторых растений выявлены существенные различия в длительностях митотических циклов у разных сортов.

Анализируя полученные данные, можно заключить, что чем больше вес семян, тем больше размеры меристемы и зоны растяжения в корнях и диаметр корня. Однако нет четкой зависимости между массой семени и скоростью роста корня. Продолжительность митотических циклов не связана однозначно с массой семян. Относительные скорости растяжения ниже в корнях у проростков с большим весом семян. Более толстые корни растут быстрее, но при этом относительные скорости роста меристематических и растягивающихся клеток и длительность митотических циклов у них такие же, как в более тонких корнях. Ускорение роста обусловлено увеличением числа делящихся или растягивающихся клеток, но не относительных скоростей их роста или деления. Следовательно, ускорение роста корня обусловлено именно увеличением числа делящихся и растягивающихся клеток, а не увеличением относительных скоростей роста и деления клеток. Можно предположить, что с увеличением размера семени возрастает приток соединений к растущей части корня. Интересно, что это влияет именно на число делящихся или растягивающихся клеток, но не на продолжительность митотических циклов или скорости растяжения.

С увеличением гаплоидного содержания ДНК возрастает продолжительность митотических циклов, но эта зависимость не столь резкая как это было описано в литературе на меньшем числе видов.

Возможные механизмы этих корреляций будут обсуждены в докладе.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Грантов РФФИ № 12-04-02502а.

ИЗМЕНЕНИЕ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ КЛЕТОК ЗАЧАТКОВ БОКОВЫХ КОРНЕЙ *BUTOMUS UMBELLATUS* L. В ПРОЦЕССЕ ИХ ФОРМИРОВАНИЯ

Cell ultrastructure changes during lateral root primordia formation in *Butomus umbellatus* L.

Жупанов И.В.

Институт ботаники им. Н.Г. Холодного, Киев, Украина; izhupanov@yandex.ua

Как известно, у большинства растений зачатки боковых корней (ЗБК) образуются в зоне дифференцировки родительского корня путем деления клеток перицикла. Однако известно, что у некоторых видов, например воздушно-водных растений, формирование ЗБК происходит в апикальной меристеме адвентивных корней.

Инициация образования ЗБК в меристеме *Butomus umbellatus* происходит в клетках наружного слоя плеромы, на расстоянии 350–400 мкм от верхушки корня. В группе инициальных клеток на расстоянии 400 мкм происходит первое переклинальное деление, это событие указывает на начало образования ЗБК. Вскоре все клетки инициальной группы делятся периклинально, что приводит к формированию двухслойной структуры ЗБК. В конце меристемы и в дистальной части зоны растяжения зачатки имеют округлую или овальную форму. На расстоянии 1–2 мм от верхушки корня размер ЗБК резко увеличивается за счет интенсивного деления клеток. Ультраструктура клеток ЗБК на расстоянии 1 мм типична для меристематических клеток. Большое округлое ядро занимает центральное положение, содержит диффузный хроматин и крупное ядрышко. Цитоплазма электрон-плотная, заполнена большим количеством свободных рибосом. Пластиды представлены лейкопластами округлой или овальной формы с плотной стромой и слабо развитой внутренней мембранной системой. Митохондрии отличаются тонкими контурами мембран, низкой электронной плотностью, и слабо развитой системой крист. Диктиосомы Аппарата Гольджи немногочисленные со слабо выраженной полярностью, имеют тонкие контуры мембран, ограничивающих цистерны. Эндоплазматический ретикулум развит слабо. Клетки вакуолизированы незначительно. Изредка встречаются периплазматические тельца и одиночные липидные капли.

На расстоянии 4 мм от верхушки корня, в центральной зоне растяжения, ЗБК состоят из 8 слоев клеток. На поперечных срезах зачатки имеют четкую, дифференцированную структуру, что свидетельствует об окончании закладки гистогенов. Внешний слой клеток ЗБК – протодерма представлен небольшими, плотно расположенными изодиаметрическими клетками. Под протодермой расположена периблема – 3–4 слоя которой состоят из относительно крупных, округлых или овальных клеток. В центре ЗБК находится плерома, она образована 3–4 слоями плотно расположенных клеток овальной формы. В клетках ЗБК *B. umbellatus*, расположенных на расстоянии 4 мм зафиксированы постепенные изменения ультраструктуры: мелкие вакуоли увеличиваются в объеме и сливаются. Гиалоплазма постепенно теряет электронную плотность. Относительный размер ядра уменьшается. Пластиды на срезах клеток немногочисленные и неоднородны по форме, размеру и структуре. Преимущественно они овальные или удлиненной формы. Некоторые пластиды содержат крахмал, который заполняет почти половину объема стромы. Повышается активность аппарата Гольджи цистерны вытягиваются. Интересно отметить, что на этом расстоянии клетки наружного слоя ЗБК отделены от коры достаточно толстой клеточной стенкой, которая, вероятно, выполняет барьерную функцию, и исключает возможность непосредственного участия клеток эндодермы в формировании боковых корней.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ИОНОВ КАДМИЯ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ *DESCHAMPSIA ANTARCTICA* DESV. *IN VITRO*

Assessment of the effect of cadmium ions on the growth and development of *Deschampsia antarctica* Desv. plants *in vitro*

Загричук О.М.[1], Парникоза И.Ю.[2], Дробык Н.М.[1]

[1] *Тернопольский национальный педагогический университет имени Владимира Гнатюка, Тернополь, Украина* zagrichuk_oks@mail.ru

[2] *Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, Киев, Украина;* Parnikoza@gmail.com

Антарктические экосистемы характеризуются существованием в условиях доминирования ограничивающих факторов окружающей среды (высокий уровень ультрафиолетового излучения, экстремальные температуры воздуха, недостаток влаги, засоление почвенных субстратов и т.д.). Кроме этого, в последние десятилетия они подвергаются воздействию высоких темпов потепления и возрастающей техногенной нагрузки. Это, в свою очередь, приводит к повышению миграционной способности элементов, в том числе тяжелых металлов, увеличению их концентрации в почвах и росту интенсивности накопления этих токсикантов в растениях. Негативному влиянию стрессовых факторов подвергается *Deschampsia antarctica* Desv. – один из двух видов сосудистых растений, способных к росту и вегетации в экстремальных условиях Антарктики. Целью работы являлось изучение особенностей накопления ионов Кадмия в растениях *D. antarctica* в смоделированной нами системе *in vitro* и исследование их влияния на морфофизиологические параметры растений. Исходным материалом для исследования были растения, полученные нами ранее путем проращивания *in vitro* семян *D. antarctica*, собранных во время экспедиций на острове Галиндез (западное побережье Антарктического полуострова). Растения культивировали на питательной среде Гамборга, Эвелейг – B_5, с 0,1 мг/л Кин, pH 5,5 при температуре 22±2°С с 16 ч световым днем при интенсивности освещения 1500–2000 лк и влажности воздуха 70–80%. Изучали влияние различных концентраций $CdCl_2$ (0,1–20 мМ) на морфофизиологические параметры растений. Определяли накопление ионов Cd^{2+} растениями при дополнении питательной среды $CdCl_2$ в концентрациях 0,2 мМ, 0,5 мМ и 1 мМ в течение 7, 14 и 21 сут культивирования.

Токсическое действие ионов Кадмия концентрацией 1,5–20 мМ на растения *D. antarctica* проявлялось уже после 7 сут культивирования. При этом растения отставали в росте, стебли были светлее по сравнению с контролем, часть из них – свернута в трубочку, молодые стебли и корни не формировались. Наблюдали уменьшение сырой массы растений на 30–75%, сухой – на 40–75%. Через 3–4 недели растения теряли зеленую окраску и погибали. При дополнении питательной среды 1–1,5 мМ $CdCl_2$ через 4 недели растения начинали формировать утолщенные, опушенные с желтоватым оттенком корни длиной 2–5 мм. Наряду с ростом молодых стеблей, интенсивно отмирали боковые. Сырая и сухая масса за период культивирования уменьшалась на 10–25%. После 6 недель культивирования растения погибали. На питательной среде с 0,1–1 мМ $CdCl_2$ в течении 3–4 недель растения *D. antarctica* постепенно адаптировались к присутствию ионов металла: восстанавливали свой рост, начинали формировать молодые корни и стебли. Укоренение и рост контрольных растений наблюдались уже с 7–10 сут. Длина корней исследуемых растений через 3–4 недели достигала 6-8 мм и была в 1,5–2 раза меньше по сравнению с контролем; высота молодых сформированных стеблей составляла 35–40 мм, в контроле молодые стебли были выше в 1,2–1,5 раза. Прирост сырой и сухой массы исследуемых растений через 3–4 недели был незначительным – до 10%, в контроле за аналогичный период – вырос вдвое. В течение следующих 4 недель сырая и сухая масса культивируемых в присутствии $CdCl_2$ растений увеличился на 25–75%, а в контроле – в 3,5–4 раза. По морфологическим признакам растения, культивируемые на среде с металлом в течение восьми недель, не отличались от контрольных. При культивировании *D. antarctica* на питательных средах, дополненных $CdCl_2$ в концентрациях 0,2 мМ, 0,5 мМ и 1 мМ, наблюдали наибольшее накопление ионов металла растениями в течение первых семи суток. При концентрации Cd^{2+} в среде 0,2 мМ его содержание в растениях *D. antarctica* в течение первой недели культивирования составляло 42,7 мг/кг сухого вещества (58,5 % от общего количества накопленного на протяжении эксперимента). За следующих 7 сут содержание ионов Cd^{2+} выросло до 70,7 мг/кг. С 14 по 21 сут количество накопленных ионов Cd^{2+} увеличилось всего на 2,3 мг/кг (3,2%). При дополнении питательной среды 0,5 мМ $CdCl_2$ на протяжении первых 7 сут растениями *D. antarctica* было накоплено 49,2 мг/кг сух. вещества токсиканта, с 7 по 14 сут – 67,2 мг/кг, а к завершению опыта – 78,1 мг/кг. При повышении концентрации $CdCl_2$ до 1 мМ, за первые 7 сут накопление ионов Cd^{2+} в растениях увеличилось до 52,2 мг/кг сух. вещества (65,4% от общего количества накопленного на протяжении эксперимента). До 14 сут содержание токсиканта выросло до 74,9 мг/кг сух. вещества, а до 21 сут – всего лишь на 3,7 мг/кг. Установлено, что *D. antarctica in vitro* сохраняет способность выживать в условиях, когда концентрация ионов Кадмия в питательной среде не превышает 1 мМ. Адаптация растений к росту в присутствии металла при этом происходит в течение 3-4 недель. Формирование и рост корней *D. antarctica* более чувствителен к действию кадмия, чем надземные части растений. За первые 7 сут культивирования растения усваивали наибольшее количество токсиканта, а с 7 до 21 сут – накопления его в растениях постепенно снижалось.

ПОЛЯРНЫЙ РОСТ ПЫЛЬЦЕВЫХ ТРУБОК *IN VITRO*: ЭФФЕКТЫ АУКСИНА И ЦИТОКИНИНА НА АКТИНОВЫЙ ЦИТОСКЕЛЕТ МУЖСКОГО ГАМЕТОФИТА

Effects of auxin and cytokinin on petunia pollen tube polar growth *in vitro*

Захарова Е.В.[1], Воронков А.С.[2], Скоробогатова И.В.[1] , Ковалева Л.В.[2]

[1] *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия* zakharova_ekater@mail.ru

[2] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия;* kovaleva_l@mail.ru

Одна из фундаментальных проблем половой репродукции растений состоит в выяснении механизмов регуляции полярного роста мужского гаметофита. Развитие и поддержание полярного роста пыльцевой трубки обеспечивает ее актиновый цитоскелет, играющий основную роль в направленном движении органелл, везикул и гамет. Полученные нами ранее данные (Kovaleva and Zakharova 2003; Ковалева и др.2005; 2009) свидетельствуют о том, что в регуляцию полярного роста пыльцевых трубок способны включаться и фитогормоны. В этой работе исследовали влияние на актиновый цитоскелет прорастающего *in vitro* мужского гаметофита петунии двух фитогормонов, ауксина и цитокинина, которые оказывают противоположный эффект на рост мужского гаметофита: ИУК стимулирует, а цитокинин ингибирует эти процессы.

Для визуализации F-актина, пыльцевые трубки петунии (*Petunia hybida* L.) фиксировали 4%-парафармальдегидом в актин-стабилизирующем буфере, содержащем 100 мМ Pipes, 1 мМ $MgCl_2$, 1 мМ $CaCl_2$ и 75 мМ KCl_2 (pH 6,9) в течение 1 ч с предварительной вакуумной инфильтрацией в течение 5 мин. После фиксации образцы трехкратно промывали и проводили пермеабилизацию путем обработки в течение 1 ч буфером, содержащим 0,1% тритон X-100 и 1 мМ DTT. Окрашивание F-актина проводили в течение 20 мин с помощью 0,66 мкМ FITC-фаллоидина в фосфатном буфере, содержащем 0.15 М NaCl, 2.7 мМ KCl, 1.2 мМ KH_2PO_4 и 6,5 мМ Na_2HPO_4. Затем образцы трехкратно промывали фосфатным буфером и исследовали на флуоресцентном микроскопе Axio Imedger D1 (возбуждение 546±6 нм, эмиссия 590 нм) с камерой Axio Cam MRc. Длину пыльцевых трубок измеряли в программе Axio Vizion 4.5.

Установлено, что актиновый цитоскелет пыльцевой трубки петунии представляет собой в базальной части трехмерную сеть толстых актиновых тяжей, располагающихся параллельно направлению оси ее роста, которые постепенно переходят в сеть тончайших актиновых нитей в субапикальной и апикальной зонах. Внесение ИУК (10^{-12} М или 10^{-6} М) в среду культивирования приводило к увеличению общего содержания F-актина в пыльцевой трубке, причем наибольшее увеличение плотности актиновых филаментов происходило в апикальной и субапикальной зонах, имеющих наибольшее значение для поддержания ее полярного роста. Кинетин, в отличие от ИУК, подавлял полимеризацию актина, снижая плотность актиновых филаментов по всей длине пыльцевой трубки.

Культивирование пыльцевых трубок на среде в присутствии латрункулина Б, ингибитора полимеризации актина, в концентрации 0,2 нМ, при которой полностью прорастание мужского гаметофита петунии не ингибировалось, а лишь замедлялся рост пыльцевых трубок, сопровождалось резким падением (до нуля) содержания ИУК, в отличие от контрольного варианта, где рост пыльцевых трубок сопровождался постепенным подъемом уровня ИУК, в то время как содержание цитокининов незначительно менялось по сравнению с контролем.

Полученные в работе результаты позволяют предполагать взаимодействие ауксина и цитокинина в регуляции полярного роста пыльцевой трубки. Гипотеза об их взаимодействии при действии на цитоскелет растительной клетки была высказана давно (Grabski, Schindler 1996) и в настоящее время в ее пользу получено достаточно данных. Полагаем, что гормоны включаются в регуляцию полярного роста пыльцевой трубки, влияя на пространственную организацию его актинового цитоскелета. При этом рост-стимулирующий эффект ауксина обусловлен стимуляцией полимеризации актина в апикальной и субапикальных зонах, а рост-ингибиторный эффект цитокинина связан с деградацией F-актина вдоль всей длины пыльцевой трубки. Резкое снижение темпов роста пыльцевых трубок на среде с латрункулином, очевидно, обусловлено нарушением полимеризации актинового цитоскелета и падением содержания эндогенной ИУК, играющей ведущую роль в поддержании апикально-направленного роста пыльцевых трубок.

Работа поддержана грантом РФФИ (13—04-00592).

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ УЛЬТРАДИСПЕРСНОГО ШЛАМА МЕТАЛЛУРГИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДСТВА НА РАЗЛИЧНЫХ СТАДИЯХ ОНТОГЕНЕЗА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

The effects of ultrafine metallurgical sludge on agricultural plants at different stages of ontogenesis

Захарова О.В.[1], Гусев А.А.[1,2], Скрипникова Е.В.[3], Скрипникова М.К.[3], Кузнецов Д.В.[2]

[1] Тамбовский государственный университет имени Г.Р. Державина, Тамбов, Россия; olgazakharova1@mail.ru
[2] Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС», Москва, Россия
[3] Мичуринский государственный аграрный университет, Мичуринск, Россия

В РФ остро стоит проблема переработки металлургических отходов (шламов), миллионы тонн которых складируются в шламонакопителях. В состав шламов входят микроэлементы, необходимые для роста и развития растений, что делает перспективным использование шламов в агрохимии.

Химический состав шлама: Fe – 85,6% масс., Zn – 8,3%, Ca - 2,4%, Al – 0,52%, Cu – 0,5%, Ni – 0,38% и др. элементы в незначительных количествах. Размеры частиц от 0,1 до 100 мкм. Эксперименты проводились в лабораторных и полевых условиях на растениях рапса ярового (*Brassica napus*) и свеклы сахарной *(Beta vulgaris, var. saccharifera)*. В лабораторном исследовании использовались дозы шлама 0,0001...10%, в полевом опыте, с учетом рекомендуемых норм внесения микроэлементов – 0,5, 2 и 4 т/га.

Определялись энергия прорастания, всхожесть и морфометрические показатели растений; показатели биологической продуктивности: масса растений с 1 $м^2$, в том числе размерные показатели (высота, площадь листьев; чистая продуктивность фотосинтеза (ЧПФ); показатели хозяйственной продуктивности: масса хозяйственно ценной части урожая, семенная продуктивность (рапс), качественные показатели хозяйственного урожая. Накопление тяжелых металлов (ТМ) в тканях растений оценивали методом атомно-абсорбционной спектрометрии.

Лабораторное исследование. Добавка шлама снижала энергию прорастания и всхожесть семян рапса, за исключением концентрации 0,1%, где наблюдалась небольшая стимуляция. При этом внесение шлама оказывало благоприятное влияние на показатели вегетации: отмечено увеличение средней длины корня на 50-90% и стебля на 15-74%. На прирост массы корня шлам не оказал существенного влияния, средняя масса стебля увеличилась на 30% при концентрациях 0,1 и 10%, снизилась на 15% при 0,01% шлама в среде. Наибольший положительный эффект оказала концентрация 0,1%. Для свеклы показано слабое влияние металлургического шлама на показатели энергии прорастания и всхожести, за исключением концентрации 0,001%, где зафиксировано повышение данных показателей на 17%, и 27% соответственно; здесь же отмечалось увеличение длины корня на 87%, длины стебля на 137%, а также прирост массы корня в 2 раза и массы стебля в 2,5 раза. Во всех вариантах эксперимента отмечена стимуляция роста вегетативных частей.

Полевой опыт. Отмечено положительное влияние шлама на вегетацию и ЧПФ растений рапса и свеклы в вариантах 0,5 т/га и 2 т/га. Для рапса максимальные показатели количества сухого вещества (г/растение) и площади листовой поверхности ($см^2$/растение) отмечены в вариантах с внесением шлама в концентрациях 2 т/га (21,12 г/растение и 1189,50 $см^2$/растение) и 0,5 т/га (20,65 г/растение и 1118,37 $см^2$/растение). Наименьшие показатели, близкие к контрольным, зафиксированы в группе 4 т/га. Наибольшая высота растений была в варианте 2 т/га, наименьшая – в варианте 4 т/га. Урожайность варьировала от 1,55 т/га до 2,17 т/га (контроль – 1,61 т/га), наибольшие показатели в вариантах 0,5 т/га и 2 т/га. Максимальное количество стручков (102,3 шт.) было в варианте 2 т/га, что больше контроля приблизительно в 2,5 раза. В варианте 4 т/га подавлялось плодообразование. Наибольшее количество семян в стручках и самые тяжелые семена отмечались в варианте 2 т/га. Таким образом, низкие (0,5 т/га) и средние (2 т/га) дозы стимулируют рост растений и формирование урожая рапса, высокие (4 т/га) ингибируют. Наилучшее развитие листовой массы и повышение ЧПФ свеклы отмечено в вариантах 0,5 т/га и 2 т/га. Масса растений в опытных вариантах возрастала, достигая максимума в варианте 2 т/га. Урожайность свеклы была выше контрольной при всех дозах шлама. Наибольший эффект отмечен в варианте 0,5 т/га – средняя масса корнеплодов 576 г., при 312 г. в контроле. Сахаристость плодов повышалась в варианте 2 т/га, однако, пересчет выхода сахара на 1 га показал, что концентрация 0,5 т/га более предпочтительна. Как и для рапса, позитивный эффект зафиксирован при нормах внесения шлама 0,5 и 2 т/га.

Анализ содержания тяжелых металлов в тканях растений показал превышение ПДК по цинку и меди в семенах рапса группы 4 т/га, в остальных случаях отклонений не зафиксировано. Содержание тяжелых металлов в почве с экспериментальных делянок также не превышает ПДК.

Таким образом, перспективными представляются дальнейшие исследования возможности использования металлургического шлама при выращивании свеклы в качестве агрохимиката.

Проект выполняется при поддержке Министерства образования и науки РФ.

ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ ПРОДУКТОВ АТМОСФЕРНОЙ ФОТОНУКЛЕАЦИИ БИОГЕННЫХ АЛЬДЕГИДОВ НА РАСТЕНИЯ

Studies of the effect of the products of atmospheric photonucleation of biogenic aldehydes on plants

Захарова Т.В.[1], Дульцева Г.Г.[1,2], Цыбуля Н.В.[3]

[1] Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической кинетики и горения СО РАН 630090, Новосибирск, Россия; toma_zakh@mail.ru
[2] Новосибирский Государственный университет, Новосибирск, Россия
[3] Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Центральный Сибирский Ботанический сад СО РАН, Новосибирск, Россия

При атмосферном фотоокислении биогенных альдегидов происходит образование твердых частиц нанометровых размеров. Они являются реакционноспособными и оказывают многостороннее действие на живые организмы. Ранее нами было исследовано антимикробное действие продуктов атмосферной фотонуклеации ароматических альдегидов – салицилового и анисового.

Цель работы – исследование биохимических и физиологических аспектов влияния продуктов атмосферной фотонуклеации биогенных альдегидов – салицилового, анисового и фурфураля - на высшие растения.

Объектами изучения служили виды, широко используемые в качестве декоративных для озеленения помещений: *Begonia heracklеifolia* Cham et Schlech., *Begonia ricinifolia* A. Dietr., *Begonia erytrophylla* Neumann, *Kalanchoe daigremontiana* Raym. Растения помещали в стеклянную камеру, в которую из фотохимического реактора поступал поток воздуха с газообразными и аэрозольными продуктами фотоокисления альдегидов. Содержание альдегидов в потоке, поступающем в реактор, не превышало 0.1 торр, что нетоксично для растений. После пребывания растений в камере в течение 6 ч отбирали для анализа листья, проводили экстракцию и исследовали химический состав экстрактов методами высокоэффективной жидкостной хроматографии, хроматомасс-спектрометрии и качественного химического анализа. Исследовали изменения в химическом составе листьев под действием газообразных альдегидов без фотолиза (контроль), газообразных продуктов фотолиза (при этом из потока с продуктами фотолиза на выходе из реактора удаляли аэрозольные частицы при помощи фильтров и подвергали растения действию лишь газовых продуктов), а также совместно газообразных и аэрозольных продуктов (не разделяя поток).

В предварительных экспериментах были определены концентрации аэрозольных частиц, их распределение по размерам и охарактеризован их химический состав. Было обнаружено, что после обработки растений продуктами фотонуклеации анисового и салицилового альдегидов в листьях накапливаются замещенные дифенилы, увеличивается содержание хинонов. В случае салицилового альдегида в листьях увеличивалось содержание салициловой кислоты, а в случае анисового альдегида возрастало содержание щавелевой кислоты. После обработки растений продуктами фотонуклеации фурфураля изменений в содержании карбоновых кислот не отмечено, но увеличивается содержание полисахаридов. Характерные для аэрозольных частиц фрагменты фотополимеров были обнаружены в листьях растений, вначале практически в неизменном виде, причем содержание их увеличивалось с увеличением времени обработки растений в камере. Затем содержание фрагментов фотополимеров уменьшалось (спустя 8-12 ч). По-видимому, органические аэрозольные частицы нанометрового размера легко проникают в ткани листьев и вступают там в химические превращения. При этом частицы, образующиеся при фотонуклеации фурфураля, оказывают умеренное токсическое действие на растения, в то время как частиц – продукты фотонуклеации салицилового и анисового альдегидов токсического действия не оказывают.

Таким образом, обнаружено, что аэрозольные частицы, образующиеся при атмосферной фотонуклеации биогенных ароматических альдегидов и фурфураля, проникают в ткани листьев и включаются в химические реакции, протекающие в листьях, вызывая изменения химического состава тканей.

ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ЭНЕРГОДИССИПИРУЮЩИХ ПУТЕЙ В ЛИСТЬЯХ СВЕТОВОГО И ТЕНЕВОГО ФЕНОТИПОВ *PLANTAGO MEDIA* L.

Functioning of energy dissipating ways in the leaves of *Plantago media* light and shade phenotypes

Захожий И.Г., Шелякин М.А., Далькэ И.В., Малышев Р.В., Дымова О.В., Табаленкова Г.Н., Гармаш Е.В., Силина Е.В., Головко Т.К.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Коми научного центра Российской академии наук, Сыктывкар, Россия; zakhozhiy@ib.komisc.ru

Свет является необходимым условием существования фотосинтезирующих организмов и ведущим фактором среды, к которому адаптируются все фотосинтетики. Экологические условия местообитаний, как правило, соответствуют физиологической норме световых реакций поселяющихся там видов растений. Можно полагать, что растения, заселяющие экотопы с разным световым режимом, отличаются широкой нормой реакций, способны обеспечивать защиту фотосинтетического аппарата (ФА) от избыточного освещения и эффективно использовать свет низкой интенсивности. Для экспериментального изучения этой проблемы, нами было предпринято исследование функционирования листьев растений *Plantago media* L. (подорожник средний) в местообитаниях с разным световым режимом. Показатели индуцированной флуоресценции хлорофилла *a* в ФСII измеряли портативным флуориметром PAM-2100 (Walz, Германия), скорость CO_2-газообмена с помощью портативной системы LCPro$^+$ ADC, Великобритания) в полевых условиях. Качественный состав и содержание фотосинтетических пигментов анализировали с помощью ВЭЖХ. Скорость дыхания определяли по поглощению O_2 на полосках листьев при 20˚С полярографически (Oxytherm system, Hansatech Inst., Англия). Способность дыхательных путей оценивали по подавлению цитохромоксидазы и альтернативной оксидазы специфическими ингибиторами. На открытом участке растения получали на порядок больше света, особенно в первой половине дня, имели мелкие листья с высокой удельной поверхностной плотностью, отличались более низким содержанием хлорофиллов и высоким уровнем конверсии пигментов виолаксантинового цикла (ВКЦ). Уровень перекисного окисления липидов и активность СОД в световых листьях была в 1.5-2 раза выше по сравнению с листьями теневых растений. Величина максимального квантового выхода (Fv/Fm), характеризующая состояние ФСII, изменялась у световых листьев от 0.8 отн.ед. (рано утром и вечером) до 0.6 отн.ед. (в полуденные часы). У листьев теневых растений величина данного параметра оставалась высокой в течение всего дня. Снижение фотохимической активности световых листьев сопряжено с увеличением диссипации энергии возбуждения антенным комплексом в большей степени, чем с инактивацией РЦ ФСII вследствие фотоингибирования. В полуденные часы при интенсивности ФАР 1200-1500 мкмоль/м^{2}с листья световых растений реализовали в фотохимических процессах не более 20% поглощенной энергии. Величина коэффициента нефотохимического тушения (qN) достигала в дневные часы 0.8-0.9 отн. ед. Выявлена тесная связь между величиной qN и уровнем деэпоксидации пигментов ВКЦ, что свидетельствует об активации зеаксантин-зависимого механизма тепловой диссипации избыточной энергии возбуждения и его роли в защите ФСII листьев светового фенотипа. Судя по кинетике индукции и релаксации qN основной вклад в тепловую диссипацию вносила компонента qE, связанная с формированием трансмембранного градиента протонов, и компонента qT, вызванная переходом ССК ФСII из состояния 1 в состояние 2. У листьев теневых растений величина коэффициента qN не превышала 0.4 отн.ед., а коэффициент фотохимического тушения qP составлял 0.8-0.9. Листья световых растений в ранние утренние часы фотосинтезировали в 2-3 раза интенсивней теневых. В полуденные часы скорость нетто-ассимиляции CO_2 у световых растений снижалась на порядок, у теневых растений депрессия фотосинтеза была выражена слабо. Определения дыхания показали, что скорость поглощения O_2 в утренние часы составляла у световых растений около 1400 нмоль/г сухой массы мин, у теневых достигала 2500 нмоль; к концу дня отмечали снижение дыхательной активности листьев на 25% и 40% соответственно. Снижение дыхания у световых листьев было связано преимущественно с уменьшением активности основного цитохромного пути (ЦП). Дыхание по альтернативному энергетически мало эффективному пути (АП) достигало максимальных значений, 800 нмоль O_2/г мин, в полуденное время. Снижение в течение дня скорости поглощения O_2 листьями теневых растений происходило вследствие постепенного уменьшения активности обоих путей. В утренние и вечерние часы вклад ЦП и АП в дыхание листьев световых растений был равным и составлял примерно 45% каждый. В полуденное время вклад АП возрастал до 55-60%, а ЦП соответственно снижался. В листьях теневых растений вовлечение ЦП в общее дыхание составляло 50%, вклад АП находился на уровне 35%. Соотношение дыхательных путей на протяжении дня не изменялось. Таким образом, нами установлены закономерности функционирования энергодиссипирующих путей в хлоропластах и митохондриях листьев светового и теневого фенотипов растений. Активация процессов диссипации поглощенной энергии снижает опасность перевосстановления ЭТЦ и развития деструктивных окислительных процессов. По-видимому, вовлечение АП способствует окислению образовавшегося в световых реакциях избытка восстановителя (НАДФН), не использованного на ассимиляцию CO_2 вследствие депрессии реакций метаболизма углерода.

ИЗМЕНЕНИЯ В ВОДНОМ ОБМЕНЕ И ГОРМОНАЛЬНОМ БАЛАНСЕ У ВИДОВ РОДА *AVENA* ПРИ ЗАСУХЕ НА РАННИХ СТАДИЯХ ОНТОГЕНЕЗА

Changes in the water metabolism and hormonal balance of species of the genus *Avena* L. at the drought at early stages of ontogenesis

Зейслер Н.А., Бахтенко Е.Ю.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Вологодский государственный университет, Вологда, Россия; zejsler@yandex.ru

Объектами изучения являлись образцы видов рода *Avena* из коллекции ГНЦ РФ ВНИИР им. Н.И. Вавилова: *A. sativa* L. var. *aurea* сорт *Borrus* (2n=42), *A. byzantina* C. Koch. сорт *Hill* (2n=42), *A. fatua* L. (2n=42) - сорно-полевой, дикорастущий, *A. strigosa* Schreb. var. *typica* (2n=14) - культурный (засоряющий посевы). Растения выращивали в условиях вегетационного опыта методом почвенных культур. Почвенную засуху создавали путем прекращения полива на 11-е сут после появления всходов и поддерживали в течение 5 сут. Влажность почвы при этом постепенно снижалась с 70% до 30% ПВ. На 5-е сутки засухи изучали показатели водного обмена: интенсивность эвапотранспирации, продуктивность транспирации, транспирационный коэффициент, водоудерживающую способность, оводненность побега и корневой системы, определяли содержание свободных форм АБК, ИУК, зеатина, зеатинрибозида методом иммуноферментного анализа.

Одной из причин снижения темпов роста при засухе являются изменения в водном обмене растений. Содержание воды в растительном организме - один из основных показателей физиологического состояния, а изменения водообмена являются характеристикой качественной направленности физиологических процессов в растении. На 5-е сут засухи у видов рода *Avena* наблюдалось уменьшение оводненности побега (5–7%) и корневой системы (3–6%), интенсивности эвапотранспирации (67–100%), транспирационного коэффициента (3–37%), увеличение ВУС (4–17%) и продуктивности транспирации (4–55%). В большей степени изменились такие показатели, как транспирационный коэффициент, интенсивность и продуктивность транспирации.

Обращает на себя внимание, что у *A. sativa* и *A. byzantina* при нормальной и недостаточной влажности почвы транспирационный коэффициент ниже, а продуктивность транспирации выше, по сравнению с *A. fatua* и *A. strigosa*.

Изменения в водном обмене протекали на фоне перестроек в гормональной системе. Так, одной из характерных реакций растений на стресс-факторы является увеличение содержания АБК, что подтвердилось для всех исследованных видов. После прекращения полива (на 3-е сут) содержание АБК у всех овсов возрастало по сравнению с контролем. В большей степени это проявилось для *A. byzantina* и *A. strigosa*. Повышенный уровень АБК сохранялся и на 5-е сут, кроме *A. sativa*. У этого вида содержание АБК снижалось по сравнению с контролем. Отличалась динамика изменения количества АБК у исследуемых видов. Так, возрастание содержания АБК у *A. sativa* и *A. byzantina* достигало максимума на 3-и сутки после прекращения полива, а у *A. fatua* и *A. strigosa* - на 5-е сут.

Количество ауксинов на 3-и сут засухи у всех видов снижалось, в большей степени у *A. sativa* и *A. fatua*. На 5-е сут после прекращения полива содержание гормона у *A. sativa* снижалось, у других видов – возрастало, причем у *A. byzantina* и *A. fatua* уровень ауксинов увеличивался по сравнению с контролем.

Аналогично ауксинам изменялись цитокинины. На 3-и сут после прекращения полива содержание зеатина и зеатинрибозида у всех представителей рода *Avena* снижалось по сравнению с контролем. Далее у *A. byzantina, A. fatua* и *A. strigosa* их уровень увеличивался по сравнению с контролем, а у *A. sativa* уменьшался. Так на 5-е сутки засухи у *A. sativa* содержание зеатина и зеатинрибозида в 2 раза ниже, чем в контроле, а у *A. byzantina* в 2 раза выше по сравнению с контролем.

Сходная реакция видов особенно проявилась при расчете соотношения фитогормонов. На 3-и сут после прекращения полива ИУК+3-ЗР/АБК снижается в результате повышения АБК и уменьшения ауксинов.

Таким образом, основная стратегия адаптации видов рода *Avena* к засухе направлена на поддержание водного баланса за счет более экономного расходования воды и повышения водопоглощающей деятельности корня. Подобная стратегия может реализовываться с помощью целого ряда физиологических механизмов, таких как ингибирование роста молодых листьев, снижение площади испаряющей поверхности, интенсивности транспирации.

Проявились и видоспецифические реакции. Сорт *Borrus A. sativa* отличался по сравнению с другими образцами торможением ростовых процессов, снижением уровня водного обмена, значительным и более продолжительным изменением гормонального статуса. У *A. strigosa* наблюдалось незначительное снижение темпов роста, уменьшение показателей водного обмена в большей степени по сравнению с остальными видами.

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ЗОН ПРОИЗРАСТАНИЯ НА МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ СОРТА РМС-120

The influence of different growth zones on metabolic parameters of sugar beet RMS-120

Землянухина О.А.[1], Вепринцев В.Н.[2], Жужжалова Т.П.[1]

[1] *Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свеклы и сахара им.А.Л.Мазлумова, Воронежская область, п.ВНИИСС, Россия; oz54@mail.ru*

[2] *Филиал ФБУ «Рослесозащита» «Центр защиты леса Воронежской области», Воронеж, Россия veprintsev-vn@yandex.ru*

В ответ на ухудшение экологической ситуации в мире и, в-частности, в России, возникает необходимость изучения реакций интродуцированных сортов сахарной свеклы к стрессовым условиям, в том числе исследование изменения активности ряда ключевых ферментов, а также содержания некоторых энергетически важных метаболитов в листьях и семенах.

Изучался механизм влияния географических зон произрастания на активность ферментов в листьях (ботве) сахарной свеклы сорта РМС-120, выращенной в Пятигорске по сравнению с контрольным вариантом - условия г.Воронежа. Ферментами экологического состояния растений сахарной свеклы, как показано в наших предыдущих исследованиях, являются пероксидаза (ПО; КФ 1.11.17), изоцитратлиаза (ИЦЛ; КФ 4.1.3.1,) изоцитратдегидрогеназа (ИДГ; КФ 1.1.1.42), малатдегидрогеназа (МДГ; КФ 1.1.1.37), глюкозо-6-Ф-дегидрогеназа (гл.-6-Ф-ДГ; КФ 1.1.1.49), NADH-дегидрогеназа (NADH-ДГ; 1.6.99.1).

Ферменты МДГ и ИДГ являются представителями ЦТК, отвечающего за клеточное дыхание, биосинтез макроэргических соединений для роста и развития растения. Удельная активность данных энзимов у местного сорта выше, чем из Пятигорска: 0,008 и 0,0 ФЕ/мг для МДГ и 0,030 и 0,014 ФЕ/мг для ИДГ. ИЦЛ - представитель глиоксилатного цикла, распространен также у растений, накапливающих оксалаты в листьях (сахарная свекла). Результаты представляют обратную зависимость по сравнению с активностью ИДГ, хотя оба фермента работают на одном субстрате. Удельная активность ИЦЛ в ботве растений из Пятигорска более чем в 3 раза превышает показатель местных растений: 0,026 и 0,009 ФЕ/мг белка. Можно предположить, что в листьях из Пятигорска превращение жиров в углеводы и накопление запасных веществ идет медленнее по сравнению с контрольным вариантом. Гл.-6-Ф-ДГ (NADP-зависимая) отличается у опытных и контрольных вариантов незначительно: 0,061 и 0,057 ФЕ/мг в ботве Воронежа и Пятигорска, соответственно, что может свидетельствовать о ровно протекающих процессах синтеза переносчиков энергии и других метаболитов. Пероксидаза является стрессорным ферментом. Ее активность в ботве растений из Пятигорска выше активности местного в 1,4 раза. При сравнении этих результатов с активностью альтернативной оксидазы NADH-ДГ, локализованной в МТХ, обнаружено, что в листьях из Пятигорска активность энзима практически равна 0, а у местной ботвы - 0,024 ФЕ/мг. Это соотносится с данными по дефицитным по NADH-ДГ трансгенным растениям, у которых снижается жизнеспособность и продуктивность растений.

Изучалось также содержание количеств растворимого белка, рассчитанное на массу семян без перикарпа, общего неорганического фосфора P_i, а также очищенного от липидно-белковых примесей фитина - основного источника фосфора среди запасных веществ семян высших растений (60-90% общего фосфора), а также соотношения фитин/фосфор как характеристики энергии прорастания семян сахарной свеклы РМС-120. Все измерения проведены в пяти биологических повторностях. Наибольшее содержание фитина обнаружено в контрольных семенах - 0038 мг/мг с.в., наименьшее - у семян из Пятигорска (0,0013 мг/мг с.в.). Соотношение величин фитин/фосфор выявило, что повышенной энергией прорастания обладают контрольные семена - 809, тогда как у семян из Пятигорска этот показатель равен 255. Величина отношения фитин/P_i может указывать на способность семян к скорейшему прорастанию и накоплению биомассы проростками, что является одной из предпосылок проявления гетерозиса по продуктивности. Изучение отношения фитин/P_i совместно с определением активности ферментов как эпигенетического показателя в семенах наряду, например, с выявлением уровня метилирования ДНК позволит прогнозировать качество будущего потомства.

Полученные результаты показывают, как различаются энергетические и биохимические свойства семян одного и того же сорта сахарной свеклы, выращенного в разных экологических и географических условиях. Они также могут быть применены для оценки энергии прорастания семян, а также для возможного прогнозирования фенотипа будущего потомства. Применение метода, безусловно, может дать экономический и экологический эффекты.

ВЛИЯНИЕ АНТРОПОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ НА МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В ЛИСТЬЯХ ДЕРЕВЬЕВ ДУБА КОЛОННОВИДНОГО *(QUERCUS ROBUR VAR PYRAMIDALIS)* И ИХ СЕМЕННОГО ПОТОМСТВА (НА ПРИМЕРЕ Г. ВОРОНЕЖ)

Effects of anthropogenic pollution on metabolism and seed progeny of *Quercus robur var pyramidalis* (at the example is Voronezh)

Землянухина О.А.[1], Вепринцев В.Н.[2], Карпеченко Н.А.[2], Карпеченко И.Ю.[2], Калаев В.Н.[3], Попова А.А.[3]

Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свеклы и сахара имАЛМазлумова, Воронежская область, п.ВНИИСС, Россия; oz54@mail.ru

Филиал ФБУ «Рослесозащита» «Центр защиты леса Воронежской области», Воронеж, Россия veprintsev-vn @yandex.ru

[3] *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия; dr_huixs@mail.ru*

В последнее столетие происходит явление массового усыхания дубрав, что связано с глобальным ухудшением экологической ситуации в мире, в частности, со значительным потеплением, засухами и понижением уровня грунтовых вод. В связи с этим возникает необходимость изучения механизма адаптации деревьев дуба к стрессовым условиям, что позволит выбрать маркеры для выявления устойчивых генотипов.

Изучалась активность ферментов ключевых циклов клетки в ювенильных листьях у трех взрослых деревьев дуба колонновидного и их семенного потомства (31 сеянец в возрасте 3 мес), растущих в различных по уровню антропогенного загрязнения территориях: черта г.Воронежа (д.1 и 2) и области (Семилукский питомник - экологически чистая территория, д.3). В качестве показателей экологического состояния исследовались ферменты: пероксидаза (ПО), изоцитратдегидрогеназа (ИДГ), изоцитратлиаза (ИЦЛ), NADH-дегидрогеназа (NADH-ДГ), малатдегидрогеназа (МДГ), малик энзим (МЭ), 6-фосфофруктокиназа, цитохром-с-оксидаза, глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназа (Гл-6-Ф-ДГ).

Наибольшая активность NADH-ДГ, ИЦЛ, МЭ наблюдается у д. 1, произрастающего внутри кольцевой дороги в центре г. Воронежа, убывание параметров идет в направлении д.1>д.2>д.3. Наиболее заметно отличие в активности 6-фосфофруктокиназы: $11{,}35>3{,}22>1{,}35\times10^{-3}$ ФЕ/мг белка. Активности эстеразы и МДГ не показали отличий. Удельная активность цитохром-***c***-оксидазы выражается противоположной тенденцией и увеличивается в экстракте МТХ от 0 (д.1) до 57×10^{-5} ФЕ/мг. В случае активности ИДГ вероятен разный способ регуляции ЦТК. На следующем этапе изучались сеянцы д. 1 и д. 2, растущие в черте г. Воронежа. Удельная активность ПО у сеянцев д. 1 в 1,7 раза превышала активность для сеянцев д.2: 3,34±0,36 и 1,94±0,16 ФЕ/мг ($P<0{,}01$). Дерево 2 растет на улице с запрещенным движением автотранспорта, т.е. находится в более благоприятных условиях по сравнению с д. 1. У последнего наблюдается меньшее (в 1,4 раза) содержание белка в листьях: д. 1 - 0,18±0,01 мг/мл и д.2 - 0,23±0,01 мг/мл ($P<0{,}01$), более высокое варьирование удельных активностей ПО (дисперсия составила 2,2 и 0,80, соответственно ($P<0{,}05$), что объяснимо как с точки зрения состояния окружающих условий, так и большей доступности при ветроопылении. Удельные активности гл-6-Ф-ДГ - ключевого фермента пентозофосфатного пути - у сеянцев д. 1 составили 0,033±0,008 ФЕ/мг и 0,046±0,009 ФЕ/мг у сеянцев д.2. Если учесть, что конечным продуктом цикла является шикимовая кислота, то у сеянцев д.1 вероятен повышенный синтез полифенолов, имеющих протекторную функцию. Измеряемых значений активностей ИДГ, МДГ, МЭ не обнаружено. Активность ИЦЛ в сеянцах д.1 ниже в 1,6 раза таковой у сеянцев д.2: $(23{,}7\pm5{,}3)\times10^{-3}$ против $(38{,}4\pm2{,}6)\times10^{-3}$ ФЕ/мл ($P<0{,}001$). Эти значения ниже активностей в листьях материнских деревьев. Результаты подтверждают, что в более чистых экологических условиях в желудях накапливается большее количество питательных веществ, метаболизм интенсивнее, а растения более выносливы. Активность NADH-ДГ у сеянцев д. 1 была ниже, чем у сеянцев д. 2: $(16{,}7\pm4{,}7)\times10^{-3}$ и $(24{,}7\pm4{,}3)\times10^{-3}$ ФЕ/мл, соответственно ($P<0{,}05$). Предполагается, что столь широкое разнообразие активностей ферментов у семенного потомства деревьев дуба будет иметь фенотипическое проявление на клеточном и морфологическом уровне. Действительно, анализ цитогенетических показателей семенного потомства дуба черешчатого *(Quercus robur* L.), произрастающего на территориях с разным уровнем антропогенного загрязнения, позволил выявить значительное его варьирование: выделены слабомутабильная, мутабильная, промежуточные группы проростков, отличающиеся как по стабильности генетического материала, так и по другим цитогенетическим характеристикам (митотическая активность - показатель пролиферации, ядрышковые характеристики - показатель биосинтетической активности). Установлена взаимосвязь цитогенетических показателей семенного потомства дуба черешчатого с морфологическими характеристиками его проростков. Чем больше нарушений митотического аппарата, ниже митотическая и ядрышковая активность в корневой меристеме проростков, тем меньше показатели интенсивности роста сеянцев (высота, диаметр побега, количество, размер листьев). Возможно предположить, что изменчивость цитогенетических и морфологических показателей проростков и сеянцев дуба на территориях с разным уровнем антропогенного загрязнения обусловлена значительным полиморфизмом на уровне активности ключевых клеточных ферментов.

РАННИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ИЗБЫТОЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ МЕДИ И ЦИНКА НА РАСТЕНИЯХ *BRASSICA NAPUS*

Early physiological effects of copper and zinc excess on *Brassica napus* plants

Злобин И.Е., Карташов А.В., Холодова В.П.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия; ilya.zlobin.90@mail.ru

Для выяснения физиологических эффектов быстрого повышения содержания меди и цинка в тканях корня были поставлены следующие задачи:

- определить, в каких тканях корня наблюдались более выраженные изменения лабильного пула меди и цинка при воздействии избытка данных металлов в среде, а также оценить скорость наступления изменений
- определить связь между увеличением в тканях корня лабильных пулов меди и цинка и некоторыми показателями металл-индуцированного стресса – повреждением клеточных мембран, накоплением в клетках супероксид-анион-радикала и развитием процесса перекисного окисления липидов (ПОЛ).

Для оценки изменения пула лабильных меди и цинка в тканях корня были использованы металлспецифичные флуоресцентные красители – Newport Green DCF для цинка и Phen Green SK – для меди. Степень повреждения мембран клеток оценивали по интенсивности окрашивания клеток корня красителем Эванс синий. Оценку ПОЛ мембран клеток корня проводили с использованием реактива Шиффа. Для измерения содержания супероксид-радикала в клетках корня использовали нитросиний тетразолий.

Отмечено, что в условиях избытка цинка уже в первые часы опыта наблюдалось преимущественное накопление лабильного цинка в клетках ризодермы; к окончанию 3-х суток опыта ризодерма апикальной части корня была основным сайтом накопления избыточного цинка в корнях. Избыток меди в среде приводил к увеличению содержания лабильного металла в тканях коры корня, вплоть до центрального цилиндра; по всей видимости, на границе между корой и тканями стели поступление меди эффективно ограничивалось. Воздействие избытка цинка и меди уже в первые часы опыта приводило к существенному повреждению мембран клеток корня; при этом избыток цинка наиболее сильно повреждал мембраны клеток ризодермы в утолщенной зоне всасывания, а в других участках корня повреждение клеток было существенно меньшим; действие избытка меди вызывало сильное повреждение мембран по всей толщине коры корня. Таким образом, наиболее значительное повреждение мембран отмечалось в тех же клетках корня, где наблюдалось и особенно выраженное возрастание пула лабильных меди и цинка. При этом, однако, цинк не вызывал значительного повышения уровня перекисного окисления липидов в тканях корня; в условиях избытка меди резкое увеличение ПОЛ отмечалось в кончике корня, однако там не отмечалось ни существенного возрастания лабильного пула меди, ни сильного повреждения мембран. Таким образом, по-видимому, обусловленное избытком меди и цинка повреждение мембран вызывалось в первую очередь не процессами перекисного окисления липидов. Действие избытка цинка к концу опыта приводило к очень сильному повышению содержания супероксид-радикала в клетках коры корня в утолщенной части зоны всасывания; однако возрастание содержания супероксида отмечалось значительно позднее, чем повышение пула лабильного цинка или повреждение мембран клеток корня. По-видимому, усиление генерации супероксид-радикала не являлось одним из основных путей токсического действия избытка цинка на клетку, а скорее было следствием общего нарушения метаболических процессов при избытке данного металла. Действие избытка меди не приводило к усилению генерации супероксид-радикала в клетках; напротив, в кончике корня отмечалось резкое снижение содержания супероксид-радикала по сравнению с корнями контрольных растений.

Таким образом, установлено, что быстрое возрастание содержания лабильных форм меди и цинка в тканях корней рапса уже в первые часы воздействия приводило к значительному повреждению мембран клеток, однако повреждение мембран, по-видимому, происходило не за счет активации процесса перекисного окисления липидов. Другой возможной причиной могло быть отмеченное в некоторых исследованиях быстрое снижение пула восстановленных соединений серы.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ АНТИДОТА БИОЛОГИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ В ПОЛЕВЫХ УСЛОВИЯХ

Assessment of the Efficacy of a Safener of Biological Origin in Field Trials

Злотников А.К.[1], Подварко А.Т.[2]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К.Скрябина Российской академии наук, Пущино, Россия; artur@albit.ru*
[2] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Всероссийский научно-исследовательский институт биологической защиты растений Россельхозакадемии, Краснодар-39, Россия*

Наиболее распространенная разновидность стрессовых воздействий, которым практически всегда подвергаются культурные растения – пестицидный стресс, который неизбежно создается самим человеком в условиях интенсивного растениеводства. Парадоксальным является факт, что если потери урожая из-за засоренности полей оцениваются в 10-15%, то урожайность культурных растений при использовании гербицидов за счет стресса может сокращаться более чем на 50%. О высокой важности пестицидного стресса для растениеводства красноречиво свидетельствуют данные о том, что большая часть посевных площадей, занятых генномодифицированными растениями (82%), приходится на культуры, устойчивые к гербицидам. Таким образом, гербицидоустойчивость является принципиально наиболее важным фактором, заставляющим земледельцев во всем мире выращивать трансгенные растения, несмотря на серьезные контраргументы токсикологов и экологов.

Альтернативным путем снижения фитотоксического действия гербицидов на культурные растения является использование специальных веществ – антидотов (англ. safeners). Они снижают гербицидный стресс, в то же время не влияя на защитное действие гербицидов.

Ассортимент антидотов на рынке пока еще не очень велик, в-основном они представляют собой химические аналоги гербицидов. Достижением последних лет является разработка малотоксичных антидотов биологического происхождения. Наиболее распространенным препаратом данной группы в практике растениеводства в настоящее время является Альбит. Препарат создан на основе биомассы почвенных бактерий *Bacillus megaterium* и *Pseudomonas aureofaciens*.

Целью нашей работы явилась оценка антидотных свойств Альбита в полевых опытах на основных полевых культурах (кукурузе, льне, просе, пшенице яровой и озимой, рапсе, сахарной свекле, ячмене яровом и озимом, сое, гречихе). В опыте на озимой пшенице Альбит добавляли в баковые смеси к основным группам пестицидов, применяемых для опрыскивания посевов. Отмечено возрастание антистрессовых свойств антидота в ряду: химический фунгицид (Альто супер, эффект 2%) < внекорневая подкормка удобрением (мочевина, 6%) < гербицид (Секатор, 11%) < инсектицид (Карате Зеон, 20%). Двукратная обработка Альбитом увеличивала антидотный эффект примерно вдвое по сравнению с однократной. Эффективность второго опрыскивания Альбитом было минимальным при использовании препарата сразу после первой обработки и на поздних стадиях роста, максимальным – при проведении второй обработки примерно через месяц после первой.

При сочетании с гербицидами различных типов, максимальная антидотная активность Альбита (20-45%) наблюдалась в баковых смесях с препаратами против двудольных сорняков, в особенности принадлежащими к 2 и 3 поколениям (2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота, дикамба, клопиралид, флорасулам), а также смесевыми препаратами, содержащими сульфонилмочевины. Антидотный эффект к сульфонилмочевинам был выражен в меньшей степени и наиболее ярко проявляется при их передозировке, или сдвиге сроков применения (например, в стадии трубкования вместо кущения). Бетанальные гербициды (десмедифам, фенмедифам и т.д.) демонстрировали среднюю величину антидотного эффекта. Сочетания Альбита с противозлаковыми гербицидами (галоксифоп-Р-метил, квазилофоп-П-тефурил, феноксопроп-П-этил и т.д.) наименее эффективны с точки зрения антидотного действия (эффект 5-10%).

Сочетание Альбита с гербицидами сплошного действия на гербицидоустойчивых трансгенных сое и кукурузе выявило наличие остаточного стрессового действия гербицидов и на эти растения. Антидотный эффект составил около 5%.

ЭУКАРИОТИЧЕСКИЕ СИГНАЛЬНЫЕ КОМПОНЕНТЫ В ОТВЕТЕ НА ХОЛОДОВОЙ СТРЕСС ЦИАНОБАКТЕРИИ *SYNECHOCYSTIS* SP. PCC 6803

Eukaryotic-like signaling components in response to cold stress conditions in the cyanobacterium *SYNECHOCYSTIS* SP. PCC 6803

Зорина А.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; zorina.anna@yahoo.com

Фосфорилирование, являясь универсальным регуляторным механизмом, принимает участие в протекании самых разнообразных физиологических процессах. Серин-треониновые протеинкиназы (СТПК) признаются на сегодняшний день неотъемлемой частью сигнальной системы не только эукариотической, но и прокариотической клетки. В этой связи исследование возможности участия СТПК, а также характера подобного участия в регуляции ответов на разные виды стресса у одноклеточной цианобактерии *Synechocystis* представляется весьма интересной задачей.

Ответ на стрессы у *Synechocystis* осуществляется при помощи нескольких регуляторных механизмов, к которым относятся двухкомпонентные системы, отрицательная сверхспирализация геномной ДНК. Кроме этого, в геноме *Synechocystis* насчитывается 12 генов СТПК, причем к настоящему времени функционально охарактеризованы далеко не все. В своей работе мы изучали участие СТПК в передаче стрессовых сигналов об изменении температуры окружающей водной среды.

Результаты биоинформатического анализа позволили нам определить, что 4 из 11 протеинкиназ (SpkC/D/F/L) могут участвовать в ответах клеток на данный стресс. Они имеют в своем составе трансмембранные домены, и поэтому могут «работать» около сайта восприятия холодового сигнала – сенсорной гистидинкиназы Hik33. Однако, исследование при помощи нозерн-блот гибридизации экспрессии ряда стресс-индуцируемых генов (*slr1291, slr1469, slr0083, hliB u hliC*) не подтвердило наших первоначальных предположений. Анализ экспрессии холодоиндуцируемых генов продолжили на всей коллекции мутантов при помощи метода ПЦР после обратной транскрипции. Мы обнаружили отличия в профилях экспрессии по сравнению с диким типом у 4 мутантных штаммов. Эти данные дали нам возможность заключить, что протеинкиназы, кодируемые генами *spkB, spkE, spkD* и *spkG*, могут быть вовлечены в ответ цианобактерии на холодовой стресс. Мутанты по вышеперечисленным генам были использованы для изучения возможных отличий на уровне протеома. Наиболее интересным с точки зрения белкового профиля оказался мутант по протеинкиназе SpkE, набор белков которого значительно отличался от контрольного штамма даже в условиях нормы – при 32°C. Также мы установили, что наличие гена протеинкиназы SpkE необходимо для фосфорилирования белков в высокомолекулярной области (50-75 кДа), причем сигнал фосфорилирования не относится ни к одной из отсутствующих групп белков.

Внутриклеточные субстраты протеинкиназы SpkE еще предстоит выявить. Тем не менее, вопреки ранее высказывавшимся пред положениям о нефункциональности SpkE – этот фермент представляет собой функционально активную протеинкиназу с явным предпочтением основных клеточных белков в качестве субстратов.

РЕАКЦИЯ ПИГМЕНТНОГО КОМПЛЕКСА ПОДРОСТА СОСНЫ НА ИЗМЕНЕНИЕ СВЕТОВОГО РЕЖИМА В НАСАЖДЕНИЯХ ПОСЛЕ НЕСПЛОШНЫХ РУБОК

Response of pigment complex of young pine on light status changes in stands after selective cutting

Зубарева О.Н.[1,2], Стасова В.В.[1], Иванов В.В[1].

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт леса им. В.Н. Сукачева Сибирского отделения Российской академии наук, Красноярск, Академгородок, Россия*
[2] *Сибирский государственный технологический университет, Красноярск, Россия*
zon@ksc.krasn.ru, roman@akadem.ru, viktor_ivanov@ksc.krasn.ru

Среди структурных элементов лесных экосистем выделяется эдификаторная роль древесных ценозов. Древостои прямыми и обратными связями регулируют собственную смену поколений. В смене материнского древостоя молодым поколением, как и в смене пород ключевую роль играет подрост. Одним из вариантов несплошных рубок, преследующих цель обеспечения успешности естественного возобновления главной породы, являются постепенные рубки. Они предполагают постепенное освобождение подроста и второго яруса там, где необходимо их приспособление к новым условиям светового, ветрового режимов и гидротермики, и где осветление в один прием может привести к усыханию или обмерзанию подроста. (Побединский 1973; Поликарпов, Иванов, 1985). Обязательным условием постепенных рубок является наличие в насаждении достаточного количества подроста и молодняка хозяйственно ценных пород или благоприятных условий для последующего естественного возобновления. Цель исследований – оценить изменение светового режима в сосновых насаждениях после первого приема несплошных рубок различной интенсивности и его влияние на содержание пигментов в ассимилирующих органах подроста сосны.

Исследования выполнены в сосняках Красноярской лесостепи, пройденных несплошными рубками интенсивностью по запасу 29%, 35% и 53% и на контрольном участке. Измерение освещенности в насаждениях проводилось по методу В.А. Алексеева (1963; 1975) на высоте 1,3 м люксметром Ю-16 в ясную погоду в период с 12 до 14 ч. Содержание фотосинтетических пигментов определяли спектрофотометрически в спиртовой вытяжке при длинах волн 665, 649 нм (хлорофиллы) и 480 нм (каротиноиды).

Недостаток света является одной из важнейших причин угнетения и отмирания подроста сосны, что отмечалось многими авторами, изучавшими ее возобновление под пологом леса, (Побединский 1973; Поликарпов, Иванов, 1985; Санников и др.1985). Полученные показатели освещенности по вариантам опытных участков показали, что в контрольном насаждении под полог проникает около 9% от полной освещенности на открытом месте, где доля участков с относительной освещенностью от 0 до 20% составляет 88% от общей площади. Эти данные позволяют рассматривать освещенность под пологом контрольных насаждений достаточной для появления и выживания всходов и самосева (до 5 лет) и не вполне благоприятной для подроста сосны в более старшем возрасте, поскольку он нуждается в более высоком уровне освещенности.

На участках, пройденных первым приемом рубок, в зависимости от их интенсивности поступает в 4,5-5,9 раз больше света. Наиболее высокий уровень относительной освещенности – 53% от открытого места – отмечен на участке с максимальной интенсивностью разреживания древостоя, где встречаются участки близкие по уровню освещенности к открытому месту. Низкий уровень относительной освещенности отмечен на участке с интенсивностью рубки 29% по запасу.

Одним из показателей жизненного состояния подроста сосны является содержание пигментов в ассимилирующих органах. Известно, что пигментный комплекс достаточно сильно реагирует на различные внешние воздействия и является показателем реакции растений и их адаптации к изменяющимся условиям среды.

Установлено, что в хвое подроста, растущего в контрольном насаждении, содержится максимальное количество пигментов, что вполне соответствует известным данным о повышении концентрации пигментов при затенении деревьев хвойных пород (Завьялова, Юшков,1979; Кирпичикова и др.1995). Через 5 лет после проведения первого приема рубок обнаружено уменьшение содержания зеленых пигментов в хвое мелкого подроста (высота 10-50 см) на 17-37 %, каротиноидов на 18-29% по сравнению с его количеством у подроста контрольного насаждения. В хвое среднего подроста (высота 51-100см) концентрация зеленых пигментов ниже контрольного уровня на 11-42%, каротиноидов на 1,5-43%. Вероятно, за период, прошедший после проведения рубок, подрост адаптировался к более высокому уровню освещенности, у него произошла смена хвои с теневого типа на световой. Прирост центрального побега увеличился по вариантам рубок в 1,5-5,1 раза, а длина хвои в 1,5-3,5 раза.

Изменение микроклиматических условий (освещения, температуры воздуха, почвы, площади питания) на участках, пройденных рубками, способствовало улучшению жизненного состояния подроста сосны.

НЕОБЫЧНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЖЕЛАТИНОЗНЫХ ВОЛОКОН ЛЬНА В ХОДЕ ГРАВИТРОПИЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ

Unusual changes in gelatin flax fibers during the gravitropic reaction

Ибрагимова Н.Н., Агеева М.В., Горшкова Т.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук, Казань, Республика Татарстан, Россия
nibra@yandex.ru

Гравитропическая реакция – ориентация органов растения в пространстве в соответствии с направлением действия силы тяжести – относится к числу важнейших факторов, регулирующих развитие растительного организма. Широко распространенный вариант гравитропизма развивается в ответ на наклон растения и сопровождается формированием изгиба стебля. Реализация такой гравитропической реакции осуществляется у растений с использованием двух основных механизмов: 1) неравномерного увеличения размеров клеток с противоположных сторон органа; 2) формирования реакционной древесины. Первый характерен для зон роста, т.е. для ограниченного по длине участка растущего органа. Второй – реализуется в зрелых, закончивших рост в длину участках и может быть составной частью комплекса процессов. Если первый тип гравитропической реакции исследуется, по крайней мере, со времен Ч. Дарвина и широко известен, то второму механизму уделяется значительно меньше внимания. Он обсуждается, в основном, в связи с развитием гравитропической реакции у древесных растений и формированием так называемой реактивной древесины, которая развивается на одной из сторон согнутого органа. У покрытосеменных растений такая реактивная древесина называется древесиной натяжения. Длительное время считалось, что формирование древесины натяжения нехарактерно для травянистых видов. Однако в настоящее время развитие древесины натяжения описано у люцерны и резуховидки, а также в корнях клевера. Считается, что во время гравитропического ответа именно ксилемные волокна, содержащие в клеточной стенке желатинозный слой (G-слой), генерируют высокое напряжение натяжением, что обеспечивает перемещение в пространстве органа. Однако практически отсутствуют данные о том, какой вклад вносят в этот процесс желатинозные слои первичных флоэмных волокон. Удобной моделью для подобных исследований служат первичные флоэмные волокна льна (*Linum usitatissimum* L), конститутивно формирующие G-слой. Для них четко охарактеризованы стадии развития, выявлены морфологические индикаторы переходов между ними, установлены биохимические и ультраструктурные особенности формируемой клеточной стенки, получен существенный объем молекулярно-генетических данных. G-слой в первичных флоэмных волокнах льна относится к числу наиболее мощно развитых. Целью нашего исследования было охарактеризовать флоэмные и ксилемные волокна льна в ходе гравитропического ответа. Было показано, что флоэмные волокна стебля льна, имеющие мощную третичную клеточную стенку, *in situ* проявили ярко выраженную реакцию на наклон стебля. Это обнаружено с помощью электронной и конфокальной лазерной микроскопии отдельных волокон и поперечных срезов стеблей, корректирующих свое пространственное положение в ходе гравитропической реакции. Наблюдали увеличение диаметра и люмена волокон, расположенных на верхней (тянущей) стороне поднимающегося стебля. Показано, что такие волокна приобретают четкообразную форму, в узкой части которых обнаружено накопление каллозы. Эти изменения сопровождаются изменением угла наклона уже отложенных в клеточной стенке фибриллярных структур. Таким образом, показано, что флоэмные волокна льна, имеющие вторичную и третичную клеточные стенки, находящиеся на разных сторонах стебля, в период реабилитации растения в пространстве имеют различные морфологические особенности, что сопровождается и структурными изменениями. В этой же части растения в клеточной стенке ксилемных волокон льна обнаружен желатинозный слой – так называемая древесина натяжения, которая, как известно, развивается для поддержки и контроля положения органов растения в пространстве. Однако полученные нами данные по флоэмным волокнам позволяют предположить не меньшую значимость этих волокон в двигательной функции стебля и в частности в развитии гравитропической реакции. Мы полагаем, что в растении такие волокна играют роль мускулов , которые позволяют перемещать в пространстве отдельные части организма, в данном случае – стебель. Понимание этого процесса и роли зрелых волокон с мощной третичной клеточной стенкой, на наш взгляд, позволит принципиально обновить концепцию движения органов зрелых растений.

Работа выполнена при поддержке РФФИ. Грант № 15-04-05721.

РЕГУЛЯЦИЯ СОДЕРЖАНИЯ АРОМАТИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ БАЗИЛИКА ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ НА РАЗНЫХ СВЕТОВЫХ РЕЖИМАХ

Control of aromatic substances accumulation in sweet basil plants grown in various light environments

Иваницких А.С, Тараканов И.Г.

ФГОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А.Тимирязева», Москва, Россия; alinena@yandex.ru

Эффективное использование электроэнергии, затрачиваемой на досвечивание растений, чрезвычайно важно при выращивании продукции в теплицах в осенне-зимний период, а также в изолированных от естественного света инженерных системах интенсивного культивирования с использованием источников искусственного освещения. Наиболее перспективными облучателями с этой точки зрения являются светоиспускающие диоды (СИД).

Мы изучаем технологические возможности регуляции в растениях биосинтеза целевых веществ, включая эфирные масла, в зависимости от светового режима выращивания при варьировании спектрального состава света. Объект исследований – растения базилика эвгенольного *Ocimum basilicum*. Растения выращиваются в почвенной культуре в вегетационных сосудах в контролируемых условиях Лаборатории искусственного климата РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева с использованием СИД с излучением в красной и синей области, белых светодиодов и натриевых ламп высокого давления (НЛВД) в качестве стандарта. Световые режимы: красный свет, синий и красный, белый свет. Фотопериод 18 ч, плотность потока фотонов 160-170 мкмоль/м^{2}с.

Листья растений *Ocimum basilicum* содержат эфирные масла (1%) в состав которых входят линалол, пинен, евгенол, камфора, цинеол и другие компоненты. Среди форм базилика выделяют группы сортов по аромату, воспринимаемому человеком: евгенольный, лимонный, гвоздичный, камфорный, ванильный базилик. Эти ароматы обусловлены разными компонентами эфирных масел. Нами были изучены зеленолистные сорта: Карлик, Johnsons (содержит цинеол, евгенол, линалол), Лимонный аромат, Johnsons и Аромат лимона, Herb (содержат в большом количестве цитраль, определяющий лимонный запах), Коричный, Гавриш (преобладающие компоненты эфирных масел евкалиптол, линалол и евгенол) и краснолистные сорта: Фиолетовый, Гавриш (содержит евгенол, метилевгенол, бергаментен), Ред рубин, Johnsons (накапливают цинеол, линалол, евгенол). Качественное и количественное определение компонентов эфирного масла проводили методом газовой хроматографии с пламенно-ионизационным и масс-селективным детектированием при использовании метода внутреннего стандарта с идентификацией веществ по библиотекам масс-спектров.

Накопление компонентов эфирных масел в онтогенезе за период наблюдений (до 65-70 дней от всходов) зависит не только от спектрального состава света, но и сопряжено с переходом растений базилика к генеративному развитию. На начальных этапах роста и развития растений, в первую половину вегетации, существенных различий в накоплении эфирных масел и их качественном составе не выявлено. Впоследствии у сортов, которые характеризуются достаточно поздним переходом к генеративному развитию (Коричный, Ред рубин, Карлик) наблюдали наибольшее накопление компонентов эфирных масел в варианте выращивания с красно-синими СИД. А у сортов с наиболее коротким вегетационным периодом (Аромат лимона, Лимонный аромат) резкий подъем содержания компонентов эфирных масел проявился под НЛВД на 45-48 день выращивания, что, очевидно, связано с наиболее ранним переходом растений к генеративному развитию в этом варианте выращивания; вместе с тем, уже через 4-5 дней наблюдалось увеличение содержания компонентов эфирного масла (более чем на 15% по сравнению с НЛВД) в варианте с белыми СИД, также связанное с переходом растений к бутонизации в данном варианте. Также в варианте выращивания базилика под белыми СИД отмечено накопление растениями наибольшей биомассы.

Наблюдали неоднозначное изменение качественного состава основных (преобладающих) компонентов эфирных масел в зависимости от сорта базилика и варианта выращивания. У сорта Карлик качественный состав основных компонентов эфирных масел в вариантах выращивания менялся незначительно, на начальных этапах вегетации в эфирное масло входили: пинен, камфора, мерцен; а также основные компоненты, содержание которых во вторую половину вегетации увеличивалось: евгенол, цинеол, линалол, и бергаментен. Изменение качественного состава компонентов эфирного у растений сорта Карлик в зависимости от источника облучения выявлено не было. У сорта Лимонный аромат (Herb), под лампами НЛВД, СИД белые, СИД красно-синие в период наблюдений в качестве основных компонентов эфирного масла выявляли цитраль и в несколько меньшем количестве карвеол. А в варианте выращивания под СИД красными на всем протяжении наблюдений обнаруживали в количествах, близких по содержанию цитралю и карвеолу - эстрагол. Интересно отметить, что у других сортов с аналогичным названием (также выявили фенотипическое сходство данных сортов базилика): «Лимонный аромат» произведенными другими фирмами (Гавриш и Johnsons) качественного изменения накопления основных компонентов эфирного масла в зависимости от используемого типа источника облучения выявлено не было.

ФОТОСИНТЕЗ И АЗОТНЫЙ МЕТАБОЛИЗМ В ЛИСТЬЯХ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ ПРИ НИЗКОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ CO_2 В АТМОСФЕРЕ

Photosynthesis and nitrate metabolisms in the wheat leaves at low concentration of CO_2 in the atmosphere

Иванов А.А., Кособрюхов А.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук, Пущино, Россия; demfarm@mail.ru

Реакция растений на действие абиотических стрессов во многом связана со снижением активности фотосинтетического аппарата и скорости метаболических процессов. При действии водного, солевого и, особенно, двойного стресса наблюдается снижение скорости поглощения углекислоты вследствие снижения проводимости устьиц и концентрации CO_2 в межклетниках листьев. При этом, активность фотосинтетического аппарата, тестируемая по выделению кислорода остается на достаточно высоком уровне. Одним из подходов к изучению выявленных факторов может служить постановка эксперимента по выращиванию растений при пониженной концентрации углекислоты в воздухе.

Целью данной работы являлось определение активности фотосинтетического аппарата по параметрам CO_2 и O_2 газообмена, а также активности ключевых ферментов азотного метаболизма и накопления пролина в листьях пшеницы в условиях пониженного содержания CO_2 в окружающей среде. При постановке эксперимента часть сосудов с 10-дневными проростками пшеницы помещали в герметическую камеру, где в результате естественного поглощения углекислоты растениями концентрация CO_2 в воздухе снижалась до компенсационной точки через 3 суток инкубации, что контролировали с помощью ИК газоанализатора. В процессе выращивания растения поливали через герметическую систему питательным раствором. Другую часть сосудов (контроль) оставляли при естественной концентрации углекислоты. Через 10 суток инкубации камеру открывали и определяли скорость фотосинтеза и активность ферментов у растениях в контроле и растущих при пониженной концентрации CO_2 в камере. Показано большее снижение скорости CO_2 газообмена у растений в опыте и большее снижения O_2 газообмена у опытных растений при использовании различных акцепторов электронов (CO_2, NO_2). Полученные результаты свидетельствуют о возможности переключения потока электронов в ЭТЦ хлоропластов на другие конечные акцепторы, связанные с азотным метаболизмом. Об активности ферментов азотного метаболизма судили путем определения активности нитратредуктазы (NR), виологен-зависимой нитритредуктазы (NiR), глутаминсинтазы (GS), НАД-зависимой глутаминдегидрогеназы (NAD-GDH) и пролиндегидрогеназы (PD). Показано, что после инкубации растений при пониженной концентрации CO_2 повышается активность GS, NiR, NAD-GDH и PD. Показано увеличение концентрации пролина, величина которой остается постоянной, независимо от времени инкубации растений при пониженной концентрации CO_2. Сделан вывод, что в условиях дефицита CO_2 в клетках происходит усиление азотного метаболизма листьев за счет как активации ферментов, так и работы светозависимой Fd-NiR. В результате накапливается пролин, величина концентрации которого поддерживается за счет активности пролиндегидрогеназы.

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ИЗУЧЕНИЯ МИТОТИЧЕСКИХ ЦИКЛОВ В РАСТЕНИЯХ

Modern trends in mitotic cycle investigations in plants

Иванов В.Б.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; ivanov_vb@mail.ru

При изучении роста и морфогенеза как в норме, так и при разных воздействиях, часто бывает необходимо понять, как изменяется пролиферация клеток – число пролиферирующих клеток (N) и частота их делений (продолжительность митотических циклов (T). В настоящее время имеются данные о продолжительности митотических циклов менее, чем в 150 видах растений. Наиболее подробно изучены митотические циклы в корнях, при исследовании которых и было введено само понятие о митотическом цикле. В гораздо меньше степени T определялась в других органах растений.

Продолжительность митотических циклов (T) в корнях зависит от гаплоидного содержания ДНК (Cval). Проведенный нами анализ показал, что эта зависимость не линейная, как предполагалось ранее рядом авторов. При повышении Cval до 20 пг T слабо меняется и резко возрастает при дальнейшем повышении Cval. Плоидность не оказывает существенного влияния на T. В корнях большинства видов при 20-25°C T порядка 10–15 ч и только у лилейных значительно выше. Из этого ясно, что в корнях большинства видов растений клетки растут с большей относительной скоростью, чем растягивающиеся клетки колеоптилей и гипокотилей. Этот факт еще часто остается вне внимания физиологии роста растений. В корнях большинства видов деления происходят в меристемах, тогда как у других органов они происходят и при растяжении. В листьях двудольных подавляющее большинство клеток возникает во время растяжения.

Для дальнейшего развития исследований важное значение имеет разработка более простых методов определения длительности циклов. В докладе сопоставлены результаты наших исследований, в которых были сопоставлены результаты определения длительности циклов с помощью тимидинового метода и предложенного нами простого метода на основе измерений скорости роста корней, длины закончивших рост клеток и подсчета числа клеток в меристеме. Для подавляющего большинства видов из более 60 изученных результаты определения T двумя методами близко совпали. Совпадение показывает, что в меристемах корней практически все клетки участвуют в пролиферации. Различия в размерах клеток разных тканей обусловлены разным числом циклов, а не различиями в длительностях циклов. В конце меристемы не происходит удлинения митотических циклов.

Рост растения происходит за счет образования новых клеток и роста их растяжением. Остановка делений клеток и переход их к растяжению (быстрому росту) являются независимыми событиями в жизненном цикле клеток. Анализ корней более 100 видов, проведенный в нашей лаборатории, показал, что в более толстых корнях деления клеток могут заканчиваться после начала растяжения. Определение T и N на протяжении одного ряда клеток позволяет определить, сколько времени находится в меристеме клетка после отделения от первой клетки на границе покоящегося центра. Эта величина, названная нами «временем жизни клеток в меристеме» не превышает для корней большинства видов нескольких суток. В докладе будет разобрано, как связан переход клеток к растяжению с остановкой пролиферации и как определяется продолжительность прохождения клетками меристемы, а также как эти процессы различаются в разных органах растений.

Анализ литературных и собственных данных показывает, что действие ряда фитогормонов связано с изменением длительности митотических циклов, на что обращали мало внимания. На примере анализа роста корней мутантов по генам, контролирующим синтез, распад и сигналинг цитокининов, брассиностероидов и гиббереллинов, а также мутантам по генам различных переносчиков ИУК, будет проанализировано, в какой мере изменения роста корней обусловлены изменением длительности митотических циклов.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Гранта РФФИ 15-04-02502.

ИЗМЕНЕНИЯ ЛИСТОВЫХ ПАРАМЕТРОВ И СОДЕРЖАНИЯ ПИГМЕНТОВ У СТЕПНЫХ И ЛЕСНЫХ РАСТЕНИЙ В ХОДЕ ВЕГЕТАЦИОННОГО СЕЗОНА

Changes in leaf traits and pigments content in the steppe and forest plants during the growing season

Иванов Л.А., Иванова Л.А., Ронжина Д.А., Юдина П.К., Калашникова И.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ботанический сад Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Россия; Leonid.Ivanov@bogard.uran.ru

Листовые параметры, такие как толщина и плотность листа, содержание пигментов, часто используются в экологических исследованиях растений как наиболее важные и легко определяемые индикаторы функционального состояния растительного организма. В то же время, известно, что в течение вегетационного сезона эти параметры могут изменяться. В литературе можно найти данные по сезонным изменениям у отдельных видов, особенно для растений с долго живущими вечнозелеными листьями и культурных однолетников. Однако основные группы дикорастущих растений в естественных сообществах изучены недостаточно. Целью нашей работы было:

- определение вклада сезонного изменения в варьирование листовых показателей;
- выяснение оптимального времени определения параметров;
- определение значимости влияния сезонных изменений при сравнении экологически контрастных групп и функциональных типов растений.

Проведены исследования листовых параметров у 30 видов преимущественно травянистых растений в течение вегетационного сезона 2014 г. Исследования проводили пятикратно - 5 и 20 июня, 9 и 23 июля и 6 августа в двух типах экосистем - остепненный склон (луговая степь) и сосняк ягодниковый (южная тайга). Расстояние между точками 3 км. В каждом сообществе были исследованы 15 видов растений относящихся к доминантам и наиболее распространенным видам растительного покрова. У растений определяли толщину и удельную поверхностной плотности листа (УППЛ), содержание хлорофиллов *a* (Хл *a)*, *b* (Хл *b*) и каротиноидов (Кар). Для определения содержания пигментов, фрагменты листьев замораживали в жидком азоте в 3 биологических повторностях. Пигменты экстрагировали 80%-м ацетоном и определяли на спектрофотометре Odyssey DR/2500 (HACH, США). Содержание хлорофиллов и каротиноидов рассчитывали по формулам Vernon и Wettstein в расчете на единицу поверхности и сухой массы листа.

Толщина и плотность листа характеризовались низким уровнем варьирования в течение сезона, как на внутривидовом уровне, так и внутри сообщества. Коэффициент вариации составлял от 7-8% на уровне сообщества до 12-13% на уровне видов. При этом различия между лесными и степными группами видов были существенно выше – УППЛ и толщина листа у степных растений были в среднем 1,5-2 раза больше. Уровень варьирования содержания пигментов был немного выше. Меньше всего варьировало содержание Хл *a* – 8-10% на уровне сообщества и 15-16% на уровне видов. Наиболее вариабельным признаком в течение сезона было содержание Хл *b,* значения коэффициента вариации которого для отдельных видов степного сообщества достигало 60%. Такая вариабельность связана с высоким содержанием Хл *b* у степных видов в ранне- и позднелетние периоды (2 и 2,8 мг/г соответственно). В результате, в эти периоды соотношение Хл *a/b* у степных растений снижалось до 1,4-2 ед, а соотношение Хл/Кар поднималось до 6,8-7,2 сравниваясь со значениями свойственными для лесных растений. Однако в период наиболее активной вегетации (в период с 20 июня по 23 июля) значения соотношений Хл/Кар, Хл *a/b* и других изученных показателей оставались практически постоянными. Именно этот отрезок времени наиболее оптимален для определения содержания пигментов. Сравнение динамики сезонного изменения листовых параметров растений показало, что содержание пигментов на ед. сух. массы были всегда значительно выше у растений лесной группы. Однако, при расчете содержания пигментов на ед. площади листа, группа лесных растений содержала Хл *a* и Хл *b* на 10-20%, а Кар – в 1,5 раза меньше, чем степные растения.

Таким образом, проведенные исследования показали, что сезонное изменение не являлось ведущим фактором в общем варьировании изученных листовых параметров. Значительно большее значение имели экологическая приуроченность видов и их принадлежность к определенной функциональной группе. При этом листовые параметры оставались стабильными у большинства видов в течение всего периода активной вегетации.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант №15-04-04186).

ОСОБЕННОСТИ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ ПРОТЕОМНОЙ РЕОРГАНИЗАЦИИ ИНТЕРФАЗНОЙ ХРОМАТИНОВОЙ МАТРИЦЫ В УСЛОВИЯХ СТРЕССА И АДАПТАЦИИ К ОЗИМОСТИ У ПШЕНИЦЫ

Features of molecular mechanisms of proteome reorganization of interphase chromatin matrix under stress conditions and adaptation of wheat to winter

Иванов Р.С., Терещенко Л.М., Вафина Г.Х., Иванова Э.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Уфимский институт биологии Российской академии наук, Уфа, Россия; evilina@anrb.ru

Растения развили ряд систем мониторинга, чтобы чувствовать окружение и координировать свой рост и развитие, соответственно. Яровизация является одним из примеров, в которых цветение происходило после того, как растения были подвержены долгосрочной холодной температуре (Kim, Sung, 2014). Стало известно, что экспрессия генов управляется развитием, стрессовыми сигналами и часто зависит от посттрансляционных модификаций хроматиновой матрицы, структурной единицей которой являются нуклеосомы. Большинство стресс индуцированных изменений сбрасывается до исходного уровня, как только стресс снимается (Kosová et al., 2014). Однако, при определенных стечениях обстоятельств некоторые модификации могут перейти в ранг «стабильной стрессовой памяти» и наследоваться в дальнейшем через митотические или даже мейотические деления клеток (Chinnusamy, Zhu, 2009). Соответствующие факторам гены яровизации и фотопериода тесно взаимосвязаны и образуют единую динамическую сеть в организации протеомного процессинга хроматиновой матрицы. Биохимическим эффектом этого влияния может быть закрепившийся паттерн молекулярного морфогенеза. Особенности биохимической адаптации (Хочачка, Сомеро, 1977), которые имеют место также и в клеточном ядре могут быть отражены в молекулярных механизмах внутриядерного *Арг-Х* протеолиза на хроматиновой матрице при индукции ростовых процессов вегетативной фазы, сформировавшихся зрелых яровых и озимых зародышей. Известно, что протеом клеточного ядра обогащен аргинином, аминокислотой обладающей резонансным свойством и образующей хвостовые сайты на уровне нуклеосом хроматиновой матрицы. Целью данной работы был анализ локализации *Арг-Х* протеазочувствительных сайтов в негистоновых и гистоновых блоках супраструктур (нуклеоплазмы, хроматина, ядерного матрикса), как возможных участков, влияющих на конформационные перестройки тотального интерфазного хроматина G1/S-переходной фазы клеточного цикла, при индукции вегетативной фазы ростового морфогенеза зрелых зародышей яровой и озимой пшениц.

Для исследования были выбраны элитные семена пшеницы (*Triticum aestivum L.*) сорта Артемовка (яровая), выведенная из нее Мироновская 808 (озимая) и выведенная из последней Мироновская Яровая (коллекция семян Всероссийского института растениеводства им. Н.И.Вавилова). Из проклюнувшихся зародышей выделяли клеточные ядра (Иванова, Вафина, 1991). Надмолекулярные супраструктуры: нуклеоплазму (Нп), хроматин непрочно- (Хр-I) и прочно- (Хр-II) связанный с ядерным матриксом (ЯМ), и собственно ЯМ, выделяли из клеточных ядер при повышении ионной силы раствора способом подробно описанным в работе (Иванова, Вафина, 1992). Из выделенных супраструктур клеточных ядер негистоновые белки (НГБ) отделяли от гистонов способом, представленным в работе (Иванова, Вафина, 2011). Трипсиноподобные комплексы (ТПК) из негистоновых (НГБ) и гистоновых блоков выделяли методом аффинной хроматографии по способу, описанному ранее в работах (Иванова, Вафина, 1991; Иванова, Вафина, 1992). Активность *Арг-Х* протеолиза в негистоновых и гистоновых блоках оценивали по расщеплению *Арг-Х* связей в аргининобогащенном белке — протамине *Salmine-A-1* («Merk»). Наши данные показали, что наиболее чувствительные к *Арг-Х* протеолизу трипсиноподобные сайты находятся в структурах хроматина прочносвязанного с ядерным матриксом озимого сорта Мироновская 808. В гипотезе гистонового кода протеолиз рассматривается как новый вид необратимых пост трансляционных модификаций гистонов. Однако экспериментального подтверждения удаления эпигенетических меток с гистоновых хвостов с помощью протеазы все еще не доказано (Purohit et al., 2012). Тем не менее, поиск такой протеазы продолжается. Мы считаем, что *Арг-Х* гиперчувствительные трипсиноподобные зоны могут представлять собой один из элементов LCR (locus control regions), имеющих отношение к гистоновому коду. Возможно, наши экспериментальные данные будут полезны для тех, кто занимается разработкой логико-математических схем теории биологической специфичности, о которых писали Р.Том (2002), Ж-М Лен (1998), в области сложной проблемы динамики молекулярного и супрамолекулярного морфогенеза.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 14-04-31243.

СТИМУЛИРОВАНИЕ ФОТОСИНТЕЗА И ПОВЫШЕНИЕ ПРОДУКТИВНОСТИ ОВОЩНОГО АМАРАНТА ПАРА-АМИНОБЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТОЙ

Stimulation of photosynthesis and increase of the vegetable amaranth productivity by para-aminobenzoic acid

Иванова Е.П.[1], Кириллова Л.Л.[2], Назарова Г.Н.[1]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук, Пущино, Россия; cheredova@mail.ru*

[2] *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Тульский государственный педагогический университет им. Л. Н. Толстого», Тула, Россия*

В данной работе исследовано действие пАБК на активность транспорта электронов в электронтранспортной цепи изолированных хлоропластов и фотофосфорилирования. Эти светозависимые процессы обусловливают активность фотосинтеза в целом и, тем самым, продуктивность растений. Объектом исследований послужили растения овощного амаранта, выращенные из семян, обработанных пАБК.

Семена *Amaranthus caudatus* L. сортообразец К 173 получены из Всероссийского НИИ селекции и семеноводства овощных культур (Московская обл.). Семена замачивали на ночь в 1 мкМ водном растворе пАБК (опыт) или в дистиллированной воде (контроль). После проращивания в чашках Петри откалиброванные проростки высаживали в сосуды с песком и выращивали растения при температуре 24^0С, 14-часовом фотопериоде и освещенности 150 Вт·м$^{-2}$; для полива использовали питательную среду Кноппа. В листьях 45-сут растений определяли содержание хлорофилла спектрофотометрически в этанольном экстракте (Wintermans 1965). В суспензии изолированных из таких листьев хлоропластов (West 1968) оценивали скорость транспорта электронов по фотовосстановлению $K_3[Fe(CN_6)]$ (мкМ/мг хл ч) (Izava 1965) и скорость фотофосфорилирования (мкМ АТФ /мг хл ч) биолюминисцентным методом (Тумерман 1967). Чистую продуктивность фотосинтеза (ЧПФ) г/м^2 в сутки рассчитывали по методу Ничипоровича (Ничипорович 1988). Биометрические измерения 30 растений проводили каждые 15 сут до даты сбора урожая (115-е сут). Продуктивность определяли по приросту биомассы. Повторность биохимических анализов 3-кратная. Статистическую обработку данных проводили с использованием программ Microsoft Excel.

Нами были обнаружены следующие достоверные эффекты. Скорость транспорта электронов в электронтранспортной цепи хлоропластов, изолированных из листьев 45-сут растений, выращенных из обработанных семян, увеличивалась на 32%; а скорость образования АТФ - на 27% в сравнении с контролем. Содержание хлорофилла в таких листьях оставалось на уровне контроля. В результате стимулирования фотохимических реакций хлоропластов ЧПФ листьев с 45-х по 55-е сутки увеличилась на 22%. Установлено стимулирование роста растений, выращенных из обработанных семян, в сравнении с контролем, как по высоте, так и по массе. Масса надземной части на всех этапах онтогенеза таких растений превосходила контроль не менее чем на 30%, а на 115 сут - на 80%. Выход биомассы листьев с растения – основной показатель продуктивности овощных форм амаранта. На 115 сут. этот параметр в среднем в опыте на 50% превышал контроль, а масса 1м^2 листьев - на 48%.

Таким образом, нами установлено, что пАБК является стимулятором светозависимых процессов фотосинтеза в листьях растений овощного амаранта и продуктивности культуры. Рекомендуется практическое применение полученных результатов в агротехнологии овощного амаранта.

ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В ЭФФЕКТИВНОМ И НЕЭФФЕКТИВНОМ БОБОВО-РИЗОБИАЛЬНОМ СИМБИОЗЕ

The antioxidant system functioning in effective and ineffective legume-*Rhizobium* symbiosis

Иванова К.А., Цыганов В.Е.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия; kirakosmonavt_24@mail.ru

Глутатион является наиболее распространенным низкомолекулярным тиолом в растениях, продуцируемым в ответ на многочисленные стрессы. Он принимает участие в регуляции клеточного цикла, транспорте и хранении серы, в реакциях, связанных с вторичным метаболизмом и атакой патогенов, а также в других процессах. У бобовых растений, структурно родственный трипептид гомоглутатион может частично или полностью замещать глутатион выполняя, по-видимому, аналогичные функции. В азотфиксирующем клубеньке бобовых растений, где многочисленные процессы способствуют продукции активных форм кислорода, глутатион также является основным антиоксидантом. Кроме того, существует положительная корреляция между активностью основного фермента биосинтеза азота – нитрогеназы и содержанием глутатиона и гомоглутатиона в клубеньках.

Для выявления пространственной локализации глутатиона и глутатион синтетазы в тканях симбиотического клубенька гороха, использовали исходную линию SGE и полученные на ее основе мутанты с аномалиями в развитии симбиотических клубеньков на различных стадиях. В результате проведенных исследований было показано, что в клубеньках исходной линии SGE глутатион присутствует в зонах инфекции и азотфиксации. Метка была ассоциирована с инфицированными клетками, заполненными симбиосомами. В то же время в зоне старения наблюдалась резкое уменьшение содержания глутатиона. В клубеньках мутанта по гену *sym40* (ортолога гена *Medicago truncatula EFD*, регулирующего работу негативного регулятора цитокининового ответа в клубеньках), где отсутствует четкая гистологическая зональность клубеньков, глутатион наблюдался в инфицированных клетках. У мутанта по гену *sym33* не наблюдается выхода бактерий в цитоплазму растительных клеток из «запертых» суберенизированных инфекционных нитей, однако в отдельных клетках и клубеньках процесс выхода может происходить. Данный ген является ортологом генов *M. truncatula IPD* и *Lotus japonicus CYCLOPS*, кодирующих ключевой транскрипционный фактор, активирующий процесс органогенеза клубенька. В ходе данного исследования было показано, что в клетках, содержащих бактероиды, наблюдается активное накопление глутатиона, в то время как в клетках, содержащих инфекционные нити, из которых не произошел выход ризобий, аккумуляция глутатиона не наблюдается. Была показана локализация глутатион синтетазы в меристеме клубеньков как исходной, так и мутантных линий.

Была исследована экспрессия генов, кодирующих ферменты синтеза глутатиона и гомоглутатиона в симбиотических клубеньках гороха: *GSH1* (γ-глутамилцистеин синтетазы), *GSHS* (глутатион синтетазы) и *hGSHS* (гомоглутатион синтетазы). Наблюдалось значительное увеличение экспрессии гена *GSH1* по сравнению с исходной линией, у всех мутантных линий. При этом было показано, что наибольший уровень экспрессии гена *GSHS* характерен для мутанта по гену *sym40*, а гена *hGSHS* – для мутантов по гену *sym33*. Ранее было показано, что мутанты по генам *sym33* и *sym40* характеризуются увеличенной продукцией активных форм кислорода в клубеньках, что вероятно, вызывает повышенную активность ферментов синтеза глутатиона. Кроме того, глутатион, вероятно, играет важную роль в поддержании окислительно-восстановительного баланса в эффективном симбиотическом клубеньке гороха.

Работа поддержана грантами Президента РФ (НШ-4603.2014.4) и РФФИ (14-04-00383).

ОГРАНИЧЕНИЯ В СКОРОСТИ ВНУТРИЛИСТОВОЙ ДИФФУЗИИ CO_2 У РАСТЕНИЙ С РАЗНЫМИ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫМИ ТИПАМИ ЛИСТЬЕВ

Constraints in intra-foliar CO_2 diffusion in plant with different structural-functional types of leaves

Иванова Л.А., Иванов Л.А., Ронжина Д.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ботанический сад Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Россия; Larissa.Ivanova@botgard.uran.ru

Влияние экологических факторов на интенсивность фотосинтеза (ИФ) рассматривают обычно как линейный процесс на уровне листа, что является лишь конечным результатом множества физико-химических процессов, происходящих внутри листа, тканей и клеток. Поступление CO_2 в лист – это сложный трехмерный процесс, который пока до конца не понятен. Главную роль в этом играет сложная структурная и биохимическая организация мезофилла, которая до сих пор мало используется для анализа фотосинтеза вследствие методических трудностей, связанных со сложной формой и нерегулярным расположением клеток и межклеточных пространств в листе. С целью выявления системы внутрилистовых ограничений фотосинтеза мы использовали уникальный подход к изучению «мезоструктуры фотосинтетического аппарата», разрабатываемый отечественными учеными более 30 лет, начиная с работ А.Т. Мокроносова с сотр. (1978, 1981). Данный подход был усовершенствован нами методикой определения трехмерных характеристик клеток сложной формы и применением современных методов компьютерного анализа изображений и трехмерной реконструкции клеточной упаковки листа. В разных экотопических условиях в окрестностях г. Екатеринбурга, были изучены 7 широко распространенных тенелюбивых лесных видов растений, имеющих разные структурно-функциональные типы листьев: однодольные с граминоидным типом мезофилла (злаки), однодольные и двудольные травы с гомогенным мезофиллом (ГОМ), двудольные травы с дорзовентральным мезофиллом (ДВ), двудольные кустарники (Куст) и двудольные полукустарнички с вечнозелеными листьями (ВЗ). Непосредственно в полевых условиях были измерены параметры CO_2- и H_2O-газообмена системой LI-6400XT (Li-COR, США), физические параметры среды (температура и влажность почвы и воздуха, освещенность, концентрация CO_2 и др.) и произведена фиксация материала для анатомических (в 3,5%-ном растворе глутарового альдегида в фосфатном буфере) и биохимических (в жидком азоте) исследований.

Исследования показали, что ИФ на единицу площади листа была примерно одинаковой у всех видов и составляла 2-2,5 мкмоль/м^{2}с, что соответствует обычным значениям для лесных видов в теневых условиях. Скорость диффузии через устьица, определенная нами по интенсивности транспирации, была максимальной у злаков и кустарников за счет большей плотности устьиц на поверхности листа, а минимальной у трав с ДВ типом и ВЗ кустарничков. Однако в процентном соотношении устьичное сопротивление составляло у всех видов примерно одинаковую долю – от 25 до 35% от общего листового сопротивления. Это означает, что основные ограничения фотосинтеза были связаны с внутренними структурой и средой листа. Поскольку диффузия в воздушной среде межклеточных пространств в десятки тысяч раз быстрее, чем в жидкой фазе клеток мезофилла, то следующими основными препятствиями на пути CO_2 к местам карбоксилирования были поверхность мезофилла и общая поверхность хлоропластов. Растения разных функциональных типов существенно различались по скорости переноса CO_2 через поверхность мезофилла (*Vmes*), которая зависела от крутизны градиента концентрации CO_2 и свойств поверхности. Кустарник *Vaccinium myrtillus* обладал максимальными значениями *Vmes* благодаря как биохимическим, так и структурным механизмам регуляции газообмена. Этот вид характеризовался максимальной интенсивностью поглощения CO_2 в расчете на единицу массы хлорофилла, что увеличивает крутизну градиента концентрации CO_2, и большой долей свободной поверхности мезофилла, 70% которой было занято хлоропластами, что также способствует облегчению абсорбции и диффузии CO_2 внутрь хлоропластов. Типичные тенелюбивые травы с ГОМ-типом мезофилла (*Polygonatum odoratum, Maianthemum bifolium, Trientalis europaea*) также обладали высокой *Vmes* в основном за счет высокой фотосинтетической активности хлоропластов, которая в 2-3 раза превышала активность хлоропластов у других ФТР. У злака *Calamagrostis arundinaceae* среднее значение *Vmes* было обусловлено высокой ассимиляционной активностью хлорофилла, но низкой долей свободной поверхности мезофилла и плотным сложением тканей по сравнению с другими типами структуры листа. Низкие значения *Vmes* были характерны для трав с ДВ типом мезофилла (*Fragaria vesca, Rubus saxatilis*) и ВЗ-видов (*Pyrola media, Vaccinium vitis-idaea)*, которые имели хлоропласты с низким содержанием хлорофилла и низкой фотосинтетической активностью, но отличались вдвое большей общей площадью поверхности клеток мезофилла по сравнению с ранее описанными ФТР, что позволяло им достигать такого же уровня ИФ. Кроме того, минимальные значения *Vmes* у ВЗ-видов (в 5 раз меньше, чем у Куст и ГОМ) были обусловлены связанными с большой продолжительностью жизни структурными особенностями - плотное сложение тканей и большая толщина клеточной стенки (2000 нм против 900-1100 нм у других ФТР). Скорость переноса CO_2 через единицу поверхности хлоропластов напрямую зависела от фотосинтетической активности хлоропластов и была максимальной у ГОМ-видов и минимальной у ВЗ- и ДВ-видов. Таким образом, растения разных функциональных типов при одинаково низкой ИФ в условиях затенения имели разные системы биохимических и структурных ограничений диффузии CO_2.

ДИНАМИКА ХЛОРОФИЛЛА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ХВОЙНЫХ В УСЛОВИЯХ ВЕГЕТАЦИИ

Dynamics of chlorophyll of photosynthetic apparatus in conifers over growing period

Иванова М.В., Суворова Г.Г.

ФБГУН Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия
omaria-84@yandex.ru

Одним из важнейших физиолого-биохимических процессов, протекающих в растительном организме, является фотосинтез. Полная трансформация энергии в процессе фотосинтеза осуществляется с помощью пяти основных белковых комплексов тилакоидной мембраны: ССК, комплексов ФС I и ФС II, цитохромного b6/f комплекса и мембранной АТФазы. Соотношение этих комплексов варьирует в процессе биогенеза фотосинтетического аппарата, а также при адаптации растений к различной освещенности. Известно, что хл a входит в состав РЦ, в ССК входят каротиноиды, хл *a* и весь хл *b*. ССК и комплекс ФС II в основном локализованы в гранальных участках мембраны тилакоидов, а ФС I и сопрягающий комплекс расположены в зонах контакта мембраны с матриксом хлоропласта (в стромальных тилакоидах и концевых участках тилакоидов гран). Изменения содержания пигментов, участвующих в процессе фотосинтеза, показывают уровень адаптивных реакций организма на стрессовое воздействие условий среды. Устойчивость фотосинтетического аппарата растений формируется за счет изменения содержания и перераспределения зеленых и желтых пигментов в ССК и/или РЦ фотосистем.

Целью данной работы было выявление адаптивного характера динамики хлорофиллов и их содержания в ССК ФСА хвои у сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) и ели сибирской (*Picea obovata* L.) в связи с фотосинтетической продуктивностью в различные по климатическим условиям вегетационные периоды.

Ранее нами было показано, что в засушливые годы у хвойных проявляется прямая регуляция фотосинтеза: у ели: водный режим – хлорофилл - фотосинтез. У сосны: температура почвы – хлорофилл – фотосинтез. Пигментом, воспринимающим внешнее воздействие и передающим его на фотосинтез, является хл *a*. В оптимальные по увлажнению годы динамика хлорофиллов определяется температурой почвы и напрямую не связана с динамикой продуктивности фотосинтеза. В этом случае, пигментами, воспринимающими внешнее воздействие, являются и хл *a,* и хл *b*.

При дальнейшем анализе выявили, что вегетационная динамика содержания хлорофилла, включенного в ССК ФСА сосны обыкновенной и ели сибирской, имеет сложный характер, отличающийся двумя-тремя максимумами в периоды со стрессовыми по увлажнению условиями и высокими температурами воздуха и сглаженный характер - в оптимальные по увлажнению годы.

Сопоставляя значения фотосинтетической продуктивности с динамикой содержания хлорофилла в ССК, выявили, что в экстремально засушливые годы при низкой за вегетацию продуктивности фотосинтеза динамика ССК имеет сложный характер с несколькими пиками. В благоприятных условиях вегетации при высоком уровне годичной фотосинтетической продуктивности динамика ССК имеет сглаженный характер. Вероятно, следует предположить, что в неблагоприятных условиях хлорофилл в ССК выполняет протекторную функцию, защищая ФСА от высоких температур и водного дефицита хвои и тем самым предотвращая деструкцию функциональных комплексов ФСА.

Сравнительный анализ литературных данных показал, что динамика содержания хлорофиллов в ССК имела одинаковый характер для трех зон исследований: юга Красноярского края, Якутии и юга Восточной Сибири (Иркутск) - с тремя увеличениями в содержании ССК в течение периодов вегетации, характеризующихся высокими температурами и засухой. Напротив, у ели обыкновенной, произрастающей на Европейском Северо-Востоке (Сыктывкар), динамика содержания хлорофилла в ССК не имела четко выраженных максимумов и минимумов и соответствовала динамике этого показателя у хвойных в Иркутской области в периоды вегетации с оптимальным почвенным увлажнением.

В данной работе впервые показано, что динамика содержания хлорофилла в ССК может иметь до трех максимумов в течение вегетации в зависимости от погодно-климатических условий. Это явление характерно для регионов Северной Азии с резко континентальными климатическими условиями, характеризующимися высокими перепадами температур и экстремально низким увлажнением почвы в период вегетации. Результаты настоящего исследования свидетельствуют, что пигментный пул хвойных деревьев обладает высокой структурно-функциональной пластичностью, осуществляя оперативные перестройки в ответ на воздействие условий среды и тем самым сохраняя фотосинтетическую активность хвои.

МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ К НЕФТЯНОМУ ЗАГРЯЗНЕНИЮ ПОЧВ

Mechanisms of adaptation of plants to soil oil pollution

Иванова Н.А., Корчагина Л.Е

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Нижневартовский государственный университет, Нижневартовск, Россия
lemazunina@rambler.ru

Деятельность нефтедобывающей отрасли в Ханты-Мансийском автономном округе-Югра оказывает значительное техногенное воздействие на природную среду, в том числе происходит загрязнение почв нефтью и нефтепродуктами. В настоящей работе приведены результаты исследований анатомо-морфологических и функциональных особенностей растений верховых болот в условиях нефтяного загрязнения почв на территории Среднего Приобья (Самотлорское месторождение, Ханты-Мансийский автономный округ, Нижневартовский район, на расстоянии 10 км от г. Нижневартовска). Для исследования были выбраны контрольные участки и участки с различной степенью нефтяного загрязнения рекультивированные и самовосстанавливающиеся. Изучены: анатомические и морфологические параметры органов растений, пигментная система, функциональные особенности листьев и корневой системы трех видов местной флоры (*Eriophorum vaginatum* L.*, Carex acuta* L.*, Typha latifolia* L.).

Анатомическое строение изучали на временных микропрепаратах с использованием цифрового микроскопа KH–7700 при двух увеличениях линз: 140 и 280. Содержание пигментов определяли спектрофотометрическим методом на приборе – SPECORD 30 (Analytik jena – Германия). Оптическую плотность раствора экстракта изучали при λ=662 нм (хлорофилл a), λ=645 нм (хлорофилл b), λ=470 нм (сумма каротиноидов). Концентрацию хлорофиллов и каротиноидов рассчитывали по формуле Лихтенталера. Содержание фотосинтетических пигментов в исследуемом объекте с учетом объема вытяжки и массы навески растительного материала рассчитывали по формуле Фаттаховой. Фотосинтез и дыхание определяли газометрическим методом на инфракрасном газоанализаторе Infralit III (Германия). Интенсивность транспирации методом взвешивания по Л.А. Иванову. Определение общей и рабочей адсорбирующей поверхности корневой системы методом Д.А. Сабинина и И. И. Колосова.

В условиях нефтяного загрязнения у всех изученных нами видов наблюдалось усыхание листовых пластинок (30–40% от общего количества листьев на растении), сокращение длины, ширины, площади ассимиляционной поверхности листьев, уменьшение общего числа листьев на растении. Снижается толщина мезофилла за счет уменьшения количества составляющих его слоев клеток. У растений *Eriophorum vaginatum* L. и *Typha latifolia* L. наблюдается разрастание аэренхимы, что улучшает функцию газообмена между органами и тканями. У растений *Carex acuta* L., как наиболее устойчивых к действию нефти, такой зависимости не выявлено. Количество проводящих пучков в большинстве случаев коррелирует с шириной листовой пластинки. Толщина эпидермы в условиях нефтяного загрязнения практически не меняется. У растений *Eriophorum vaginatum* L. происходит сокращение количества клеток, рассчитанных на 1 $см^2$ площади листа, на один лист, на одно растение. У растений *Typha latifolia* L. наблюдается такая же закономерность, при чем, количество клеток губчатой ткани уменьшается в большей степени по сравнению с полисадной. У *Carex acuta* L. в условиях нефтяного загрязнения количество клеток и количество хлоропластов в клетках растет. У всех видов уменьшаются размеры клеток и хлоропластов.

Все изученные функциональные процессы листьев – интенсивность фотосинтеза, темновое дыхание, транспирация – снижались, более значительно на нерекультивированных участках. Нефтяное загрязнение почв снижает общее количество пигментов в ассимилирующих органах растений, в связи с этим наблюдается снижение процессов фотосинтеза, и, как следствие, – минимизация прироста органического вещества. Для более устойчивых к действию нефти видов растений (*Eriophorum vaginatum* L. и *Carex acuta* L.) характерно уменьшение соотношения хлорофиллов *a* и *b* и отношения суммы хлорофиллов к каротиноидам.

Корни в условиях загрязнения нефтью отличаются меньшими размерами, сокращается длина корня, объем корневой системы, степень ветвления, изменяется морфология (переход от мочковатого типа корневой системы к стержневому). Прекращается формирование и развитие корневых волосков. Происходит утолщение экзодермы корня, увеличение диаметра центрального цилиндра, сокращение площади поперечного сечения корней, уменьшение размеров клеток паренхимы, увеличение количества воздухоносных путей и количества слоев клеток экзодермы, у *Eriophorum vaginatum* L. и *Carex acuta* L. возрастает процент ксилемных элементов. Уменьшается общая, рабочая поглощающая поверхность и увеличивается недеятельная адсорбирующая поверхность корней.

Все изученные параметры можно использовать для оценки состояния нефтезагрязненных земель, а изученные виды, в связи с их высокой устойчивостью к действию нефти, можно рекомендовать для фитомелиорации болотных почв.

МИКОРИЗООБРАЗОВАНИЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ РАСТЕНИЙ БОЛОТ

Mycorrhization and functional features of bogs plants

Иванова Н.А., Юмагулова Э.Р.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Нижневартовский государственный университет, Нижневартовск, elvirau2009@yandex.ru

Большую роль в адаптации растений к среде обитания имеют мутуалистические отношения, в том числе образование микоризы. Она широко распространена у растений таежной зоны и играет важную роль в усвоении азота, создании продуктивности, адаптации растений к неблагоприятным условиям среды. В данной работе проведено изучение особенностей образования микоризы и функциональных процессов у сосудистых растений верховых болот на территории Нижневартовского района Ханты-Мансийского автономного округа – Югра на участке в 20 км от п. Высокого. Изучены 11 видов растений: подбел восколистный *(Andromeda polifolia* L.*)*, мирт болотный *(Chamaedaphne calyculata* (L.) Moench*),* клюква болотная (*Oxycoccus palustris* Pers.*),* багульник болотный *(Ledum palustre* L.*),* голубика *(Vaccinium uliginosum* L.*)*, береза карликовая *(Betula nana* L.*)*, пушица влагалищная (*Eriophorum vaginatum* L.*),* осока пузырчатая *(Carex vesicaria* L.*)*, морошка *(Rudus chamaemorus* L.*),* сосна обыкновенная *(Pínus sylvéstris* L.*),* сосна сибирская (*Pinus sibirica* Du Tour*)*. Проведено исследование эктомикоризы и арбускулярной микоризы (эндомикоризы) по методике Селиванова. Степень развития микоризы рассчитывали по пятибалльной системе. С целью выявления влияния развития микоризы на функциональные процессы была изучена общая продуктивность растений, структура биомассы органов: LMR (доля листьев), RMR (корней), SMR (стеблей), GMR (генеративных органов), LAR (отношение S листьев/m растения), типы стратегии на основе дикриминантного анализа, фотосинтез, дыхание, водообмен, образование пигментов и химический состав листьев. Определение фотосинтеза и дыхания вели газометрическим методом, содержание пигментов спектрометрическим методом, параметры водного режима (интенсивность транспирации, водоудерживающую и водопоглощающую способность листьев, содержание свободной и связанной воды) по общепринятым методикам, общего азота методом Къельдаля, нитратного азота, растворимых сахаров колориметрическим методом и тонкослойной хромотографии.

Общая степень образования микоризы у изученных видов колебалась от 5 баллов у березы карликовой до 0,6 у клюквы болотной. У всех изученных видов степень развития микоризы была ниже, чем у березы карликовой в 1,5 – 8 раз. Развитие эктомикоризы колебалось от 3, 5 баллов до 0,6; арбускулярной от 1,5 до 0,6 баллов. Осока пузырчатая микоризы не имела, у клюквы болотной отсутствовала арбускулярная микориза. Таким образом, наблюдалась видовая специфичность процесса микоризообразования.

Выявлена положительная зависимость между степенью микоризации у растений и их типом стратегии. Выше всего данный показатель был у конкурентов, он в среднем составлял 2,9 балла, второе место занимали стресс-толеранты 1,95; третье рудералы 1,12. Такая же зависимость прослеживалась между развитием микоризы и массой растений; содержанием свободной воды в листьях и индексом отношения фотосинтеза к дыханию. Конкуренты имели самую высокую биомассу, в среднем 40,15 г/растение, стресс-толеранты – 2,17 г/растение, рудералы 1,15 г/растение. Положительная зависимость выявлена между величиной стеблевого индекса и степенью образования микоризы, у конкурентов индекс стеблей имел самую высокую величину 42,95; у стресс-толерантов 26,07; у рудералов 16,66. Содержание свободной воды в листьях у конкурентов составляло 18,89%, стресс-толерантов 16,1%, рудералов 15,59%. Величина индекса отношения фотосинтеза к дыханию увеличивалась от конкурентов к рудералам и имела значение у конкурентов 2,96; у стресс-толерантов 0,58; у рудералов 0,15.

Содержание общего азота и углерода в листьях изученных растений было выше у конкурентов, как было отмечено выше они имели более развитую микоризу. У стресс-толерантных и рудеральных видов эти показатели имели более низкие значения и показатели образования микоризы у них ниже. Наблюдалась отрицательная зависимость между величиной генеративного индекса, LAR и развитием микоризы. Конкуренты имели самую высокую степень развития микоризы и самый низкий индекс генеративных органов 3,78; стресс-толеранты по данным показателям занимали среднее положение – 6,13; рудералы характеризуются самой высокой величиной индекса генеративных органов – 17,8 и слабым развитием микоризы. Такая же закономерность прослеживалась между величиной LAR и образованием микоризы. Обратная зависимость была выявлена между степенью развития микоризы и образованием пигментов, интенсивностью дыхания, содержанием связанной воды в листьях, водопоглощающей способностью листьев и содержанием неструктурных полисахаридов. Не выявлено четкой зависимости между степенью развития микоризы у изученных видов и значением индекса листьев, корней, интенсивностью транспирации, фотосинтеза, водоудерживающей способностью листьев и содержанием растворимых сахаров. У конкурентов листовой индекс имел среднее значение - 25,32; у стресс-толерантов наименьшее - 22,72; у рудералов наибольшее 47,13. Величина корневого индекса у конкурентов имела промежуточное значение - 27,97; у стресс-толерантов максимальное - 45,07 и у рудералов минимальное - 19,15.

СОСТОЯНИЕ ОХРАНЯЕМОГО ЛИШАЙНИКА *LOBARIA PULMONARIA* (L.) HOFFM. В ЛЕСНЫХ СООБЩЕСТВАХ ЮЖНОЙ КАРЕЛИИ ПРИ РАЗНОМ УРОВНЕ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ

State of the protected lichen *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. in plant communities of south Karelia at different levels of anthropogenic loading

Игнатенко Р. В., Тарасова В. Н.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Петрозаводский государственный университет», Петрозаводск, Россия; ocean-9@mail.ru

С середины XX века во многих странах Европы, в том числе и в России, отмечается существенное сокращение плотности и ареала популяции эпифитного макролишайника лобарии легочной (*Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm., *Lobariaceae*, *Ascomycotina*). Этот вид приурочен к коренным малонарушенным лесам, является индикатором чистоты атмосферного воздуха. Лобария легочная внесена в ряд международных Красных книг, а также в Красные книги Российской Федерации и Республики Карелия.

Изучение популяций лобарии легочной проводилось в растительных сообществах Южной Карелии в течение полевых сезонов 2011–2012 гг. Работа выполнена на следующих, различающихся уровнем антропогенной нагрузки, территориях: 1) Петрозаводского городского округа (ПетрГО) 2) в заказнике «Заозерский», граничащим с городом; 3) в заповеднике «Кивач», находящимся в 80 км к северу от ПетрГО.

Для изучения популяций *Lobaria pulmonaria* был использован маршрутный метод. В месте обитания вида регистрировали характеристики сообщества (тип леса, сомкнутость крон, состав и структуру древостоя), деревьев (породу, возраст, диаметр ствола, высоту) и параметры микроусловий (экспозицию ствола, высоту над землей, угол наклона поверхности ствола, pH корки). Для каждого таллома при помощи рамки 30х30 см отмечали общую площадь и площадь некрозов ($см^2$), а также принадлежность к функционально-возрастной группе по методике И. Н. Михайловой (2005): стерильные, гипосоредиозные, мезосоредиозные, гиперсоредиозные, субсенильные, сенильные, фертильные.

Всего на территории исследования было обнаружено 101 дерево, на котором обитает 343 таллома лобарии легочной (69 – в ПетрГО, 127 – в заказнике, 147 – в заповеднике). Средняя площадь и площадь некрозов талломов в лесных сообществах г. Петрозаводска значимо выше (123 $см^2$, 26 $см^2$, соответственно), чем в заказнике (68 $см^2$, 8 $см^2$) и заповеднике (67 $см^2$, 5 $см^2$). Плотность популяции в растительных сообществах г. Петрозаводска составляет 1,8 талломов на 1 километр маршрута, в заказнике – 42,3, в заповеднике – 98.

Изучение популяционной структуры показало, что популяция лобарии в растительных сообществах ПетрГО является неполночленной, в ней отсутствуют фертильные талломы, преобладают субсенильные (36%) и сенильные (19%) особи. В заказнике были обнаружены все функционально-возрастные группы, кроме фертильной. В составе популяции возрастает доля молодых талломов (стерильных 25%, гипосоредиозных 27%), сокращается доля субсенильных (13%) и сенильных (4%).

В заповеднике «Кивач» лобария легочная формирует полночленную популяцию, с преобладанием молодых талломов – стерильных (29%), гипосоредиозных (24%) и мезосоредиозных (20%), с минимальной долей субсенильных (8%) и сенильных (2%) особей, 10% талломов являются фертильными.

Таким образом, площадь талломов и площадь некрозов, плотность популяций и функционально-возрастные спектры *Lobaria pulmonaria* в лесных сообществах южной Карелии существенно зависит от уровня антропогенной нагрузки. С увеличением последней снижается плотность популяции; возрастает доля субсенильных и сенильных особей, сокращается доля молодых талломов. Фертильные талломы (с плодовыми телами) были обнаружены только в сообществах с большой давностью нарушения (в заповеднике «Кивач»), что свидетельствует о генетической гетерогенности популяции и перспективах ее устойчивого существования в будущем.

КАРБОАНГИДРАЗЫ КЛЕТОК ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Carbonic anhydrases of higher plant cells

Игнатова Л.К., Журикова Е.М., Руденко Н.Н., Федорчук Т.П., Иванов Б.Н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук, Пущино, Россия; lkign@rambler.ru

Карбоангидразы – (КА, карбонат гидролиаза НФ 4.2.1.1) цинксодержащие металлоферменты, осуществляющие обратимую гидратацию CO_2. На основании сходства консервативных последовательностей нуклеотидов, кодирующих активный центр фермента, они классифицированы в несколько генных семейств. У высших растений обнаружены КА, принадлежащие к α-, β- и γ-семействам. У *Arabidopsis thaliana* обнаружено шесть α-КА, восемь β-КА и пять γ-КА. Существуют как растворимые изоформы фермента, так и мембраносвязанные. КА обнаружены в разных компартментах клетки, часто в нескольких изоформах в одном компартменте.

В плазматической мембране клеток арабидопсиса находится β-КА4 (название КА приводится в соответствии с номенклатурой Fabre et al., 2007). Уровень экспрессии гена *At1g70410*, кодирующего ее и ферментативная активность возрастали при выращивании растений арабидопсиса при повышенной концентрации углекислоты (700 ppm). Км (CO_2) плазмалеммной КА гороха невысока (104 мМ) по сравнению с растворимой стромальной КА. Нокаутные мутанты по β-КА4 арабидопсиса имели равную с диким типом (ДТ) $K_{0,5}$ (CO_2) для CO_2- зависимого выделения O_2, но более низкую величину стационарной скорости этого процесса V_{max}. Показано участие плазмалеммной КА в поступлении CO_2 в клетку, о чем свидетельствует сходство кинетик поглощения протонов и выделения O_2 и близкий порядок скоростей обоих процессов.

В цитоплазме клеток арабидопсиса содержатся две растворимые изоформы КА: β-КА2 и β-КА3. Уровень экспрессии генов *At5g14740* и *At1g23730*, кодирующих эти КА, снижался при выращивании в атмосфере повышенного CO_2. КА активность фракции растворимых белков, включающих стромальную β-КА1, также снижалась у арабидопсиса и гороха. Нокаутные мутанты арабидопсиса по этим растворимым КА по показателям фотосинтеза, измеренным с помощью РАМ-флуориметрии, не отличались от дикого типа.

В митохондриях арабидопсиса содержится пять КА γ-семейства, входящих в состав митохондриального комплекса I, и β-КА6. Уровень экспрессии гена *At1g58180*, кодирующего β-КА6 уменьшался при выращивании растений при повышенном CO_2. При переносе растений с низкого (80 мкмоль квантов /($м^2$с)) на высокий (360 мкмоль квантов /($м^2$с)) свет уровень экспрессии этого гена не изменялся .

В хлоропластах обнаружены по две изоформы α- и β- КА и несколько источников КА активности неустановленной природы, связанных с фотосистемами 1 и 2 (ФС1 и ФС2). В строме хлоропластов содержатся α-КА1 и β-КА1. Среди белков тилакоидных мембран найдена α-КА4 (Friso et al., 2004). Показатели фотосинтеза ДТ арабидопсиса и мутантных по гену *At4g20990,* кодирующему эту КА, измеряли с помощью РАМ-флуориметрии на листьях целых растений при разной освещенности (100 и 500 мкмоль квантов /$м^2$с) и разных концентрациях углекислоты (100, 800 и 1500 ppm). Были оценены компоненты нефотохимического тушения флуоресценции (НФТ), отражающие величину подкисления люмена на свету (qE), состояние светособирающего комплекса ФС2 (qT) и фотоингибирование (qI). Квантовый выход фотосинтеза при освещении светом высокой интенсивности у мутантных по α-КА4 растений был ниже, чем у ДТ при низкой концентрации CO_2, сравнивался с ДТ при повышенной и превышал ДТ при сверхвысоких концентрациях CO_2. НФТ при высоких концентрациях CO_2 было ниже, чем у ДТ за счет компонента qE. Предполагается, что α-КА4 участвует в активации НФТ, ускоряя протонирование необходимых для этого компонентов.

Аналогичным образом исследовали мутантные по α-КА2 растения. Местонахождение α-КА2 в клетке неизвестно, однако нокаутные мутанты по гену *At2g28210,* кодирующему эту КА, проявляли более низкий квантовый выход ФС2 при освещении низким и высоким светом при всех используемых концентрациях CO_2. Наибольшее различие по квантовому выходу наблюдали при освещении высоким светом и 800 ppm CO_2. При этих условиях коэффициент НФТ был выше у мутанта на 30-40%, чем у ДТ за счет компонента qE в отличие от мутантов по α-КА4. Компоненты qT и qI практически не отличались от ДТ. Изменение этих важных показателей фотосинтеза у мутантных по α-КА2 растений, позволяют думать, что этот фермент расположен в хлоропласте. По-видимому, эта КА способствует использованию протонов люмена для конверсии бикарбоната в CO_2.

Методом GFP- fusion показано наличие в хлоропластах арабидопсиса β-КА5 (Fabre et al., 2007). Нокаутный мутант по этой КА значительно отстает по ростовым показателям от ДТ. Нами обнаружена КА в люмене тилакоидов из гороха и арабидопсиса. Свойства этой КА: активация дитиотрейтолом, ингибирование сульфамидами аналогичное ингибированию β-КА1, позволяет предполагать принадлежность этой растворимой люменальной КА к β-семейству. Мы полагаем, что это может быть β-КА5. Возможные функции КА обсуждаются.

ВИДОВАЯ СПЕЦИФИКА РЕАКЦИЙ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ТЕПЛОЛЮБИВЫХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ НА КРУГЛОСУТОЧНОЕ ОСВЕЩЕНИЕ И КРАТКОВРЕМЕННОЕ ЕЖЕСУТОЧНОЕ ПОНИЖЕНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ

Species specific response of photosynthetic apparatus of cold sensitive plant species to continuous light and daily short-term temperature drop

Икконен Е.Н., Шибаева Т.Г., Шерудило Е.Г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия; likkonen@gmail.com

Задача данного исследования состояла в сравнительной оценке функционального состояния фотосинтетического аппарата (ФА) теплолюбивых видов растений при выращивании их в условиях круглосуточного освещения (КО) и выявлении роли кратковременного ежесуточного понижения температуры в снижении негативных последствий КО на функционирование ФА растений. Объектами являлись три вида семейства *Solanaceae*: перец (*Capsicum annuum* L.), томат (*Lycopersicon esculentum* Mill.) и баклажан (*Solanum melongena* L.). Растения выращивали в камерах искусственного климата при температуре воздуха 26°С, фотосинтетически активной радиации 150 мкмоль/($м^2$·с), фотопериоде 16 ч или 24 ч. Часть растений, выращиваемых при КО, ежедневно в течение 2 ч подвергали действию температуры 10°С (ДРОП-воздействие). Измерения биометрических показателей и параметров состояния ФА растений были проведены в конце перепродуктивного периода перед высадкой растений в теплицы.

Выращивание растений в условиях КО привело к развитию хлороза и некроза листьев баклажан, хлороза листьев томата и морщинистости листьев перца. КО вызвало снижение надземной биомассы и площади листьев у растений томата и баклажана, в отличие от перца, и повышение величины отношения сухой массы листьев к их площади у всех исследованных видов по сравнению с растениями, выращенными в условиях 16 ч фотопериода. ДРОП-воздействие уменьшило степень повреждений, вызванных ростом в условиях КО у всех видов растений, но не оказало значимого влияния на биомассу и площадь листьев. При КО содержание хлорофилла и доля пигментов в светособирающем комплексе снизилось у перца и томата, а содержание каротиноидов не изменилось в листьях всех трех видов. ДРОП-воздействие в условиях КО способствовало поддержанию высокого уровня содержания хлорофилла только у томата.

Максимальный квантовый выход фотохимической активности фотосистемы II при КО снижался в большей степени у томата и баклажана, а скорость видимого фотосинтеза - у всех видов. Несмотря на снижение устьичной проводимости в листьях растений при КО, высокое содержание CO_2 в межклеточном пространстве не подтвердило вероятность устьичного лимитирования фотосинтеза. ДРОП-воздействие способствовало восстановлению уровня фотосинтеза и параметров флуоресценции хлорофилла у растений перца и томата, но не у баклажана.

Таким образом, выявлены различия в реакции ФА теплолюбивых вида растений, принадлежащих к одному семейству (*Solanaceae*), на условия круглосуточного освещения и ДРОП-воздействие. Результаты показали более высокую устойчивость ФА к действию КО у перца и низкую у баклажана. Чувствительность ФА всех исследованных видов растений к КО проявилась в изменении содержания и соотношения фотосинтетических пигментов, снижении параметров флуоресценции хлорофилла и уровня фотосинтеза. У перца и томата, в отличие от баклажана, ежесуточное кратковременное понижение температуры при КО способствовало восстановлению реакций ФА до уровня растений, выросших в условиях 16 ч фотопериода.

Работа выполнена с использованием оборудования Центра коллективного пользования научным оборудованием Института биологии КарНЦ РАН при финансовом обеспечении из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания (№ темы 0221-2014-0002) и РФФИ (проект № 14-04-00840_а).

ФОТОСИНТЕЗ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ВОДЫ У *CUCUMIS SATIVUS* L. ПРИ ЕЖЕСУТОЧНОМ КРАТКОВРЕМЕННОМ ПОНИЖЕНИИ ТЕМПЕРАТУРЫ

Photosynthesis and water use efficiency in *Cucumis sativus* L. in response to daily short-term temperature drop

Икконен Е.Н., Шибаева Т.Г., Шерудило Е.Г., Титов А.Ф.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия; likkonen@gmail.com

В условиях контролируемой внешней среды изучали влияние кратковременного (2 ч в конце ночного периода) ежесуточного (в течение 6 суток) понижения температуры до 12°С (ДРОП-воздействие) на видимый фотосинтез и эффективность использования воды (WUE, *water use efficiency*) в листьях огурца (*Cucumis sativus* L.), находящихся в период данного воздействия в фазе активного роста или в зрелом состоянии. Установлено, что ДРОП индуцирует повышение как уровня фотосинтеза, так и WUE. Кроме того, под влиянием ДРОП происходили изменения в содержании и соотношении фотосинтетических пигментов и их распределении по фотосинтетическим пулам, повышение содержания воды в листьях и доли корней в общей биомассе, снижение площади листьев и величины отношения сухой массы листьев к их площади. Показано также, что листья, подвергавшиеся ДРОП в фазе активного роста, были способны к бóльшим структурным преобразованиям, что обусловило и более значимое повышение устойчивости фотосинтеза к температурным изменениям по сравнению с листьями, находившимися во время ДРОП-воздействия в зрелом состоянии.

В листьях, испытывавших воздействие температуры 12°С во время их активного роста и созревания, зафиксированы структурно-функциональные перестройки, свидетельствующие об адаптации растений к холоду. В отличие от этого листья, испытавшие действие холода в зрелом состоянии, оказались не способными изменять свою структуру, химический состав и ферментативную активность в той степени, которая необходима для более полной адаптации. В таких листьях, вероятно, преобразования произошли только за счет изменений в работе уже существующих (ранее сформированных) клеточных структур и систем, ограничивая их адаптационные возможности.

Показатель WUE, определяемый как отношение фотосинтеза к транспирации, позволяет оценить возможности растений в оптимизации поступления углерода по отношению к потерям воды при изменении условий среды. Растения с высоким WUE способны ассимилировать больше углерода при меньших объемах поглощенной воды, что позволяет им расти и развиваться в условиях недостатка воды в почве. Результаты показали, что увеличение WUE у листьев, подвергшихся ДРОП-воздействию в начальной фазе роста, обусловлены повышением уровня фотосинтеза в условиях низкой температуры и снижением скорости транспирации и устьичной проводимости в условиях оптимальной температуры. Причиной понижения устьичной проводимости в листьях огурца после ДРОП-воздействий могут являться изменения в анатомо-морфологической организации растений. Контроль над использованием воды растением был реализован как за счет увеличения доли корней в общей биомассе, так и за счет преобразований на уровне листа, проявившихся, в частности, в ингибировании роста молодых листьев под влиянием ДРОП, и снижении величины отношения массы таких листьев к их площади. Указанные преобразования ответственны за сокращение использования растениями воды, что, по-видимому, является одной из причин повышения WUE.

Работа выполнена с использованием оборудования Центра коллективного пользования научным оборудованием Института биологии КарНЦ РАН при Финансовом обеспечении из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания (№ темы 0221-2014-0002) и РФФИ (проект № 14-04-00840_а).

ВЛИЯНИЕ ИОНОВ МАГНИЯ НА МОРФОГЕНЕЗ КЛЕТОК *ARABIDOPSIS THALIANA* HEYNCH. И СТРУКТУРУ АКТИНОВОГО ЦИТОСКЕЛЕТА.

Effect of magnesium ions on the morphogenesis of *Arabidopsis thaliana* Heynch. cells and the structure of the actin cytoskeleton

Ильчуков В.В., Соколова М.К.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов, Россия; yvilchukov@ibppm.sgu.ru

Изучали влияние повышенной концентрации ионов магния (5 мМ) на морфологию и структуру актинового цитоскелета клеток суспензионной культуры арабидопсиса в условиях холодового стресса. Ранее нами было показано, что кратковременная инкубация клеток (24 ч при 4°С) не приводит к существенным изменениям как в размерах, так и в характере формирования агрегатов клеток. Независимо от температурных условий, повышение концентрации в среде культивирования ионов магния (с 2 до 5 мМ) приводит к заметным изменениям в морфологии клеток. В частности, усиливается полидисперсность клеток – 16-62 мкм в диаметре. В то время как в контроле диаметр клеток не превышает 19–23 мкм. Наблюдается значительное количество деформированных клеток. Отмечается преимущественное формирование агрегатов клеток в виде друз.

Увеличение концентрации ионов магния и холодовой стресс изменяют и структуру актинового цитоскелета. В процессе холодового стресса (4°С) в клетках происходит быстрое разрушение F-актина (на 65%). Содержание F-актина определяли по степени флуоресценции маркера фаллоидин + Alexa Fluor 488. В условиях повышенной концентрации ионов магния в течение первых 24 ч в клетках также происходит заметное (на 40%) снижение уровня содержания F-актина. Исчезает развитая сеть F-актина вокруг ядра и митохондрий. Отчетливо видны редкие тяжи F-актина в кортикальном слое. При совместном действии холодового стресса и ионов магния на содержание и структуру F-актина в клетках не отмечается наличие синергетического эффекта. После снятия стрессовой нагрузки и повышенной концентрации ионов магния структура и содержание F-актина в клетках достаточно быстро (в течение 2-3 суток) возвращается к норме.

Мы предполагаем, что похожее действие холодового стресса и ионов магния на F-актин клеток *A. thaliana* может быть связано с изменением баланса двухвалентных катионов, что, в конечном итоге, отражается и на архитектуре актинового цитоскелета в целом.

ДИНАМИКА ТРАНСПИРАЦИИ И ПЕРЕНОСА ВОДЫ ПО РАЗНЫМ ПУТЯМ В КОРНЕ ПРИ НИЗКОМ ВОДНОМ ПОТЕНЦИАЛЕ КОРНЕОБИТАЕМОЙ СРЕДЫ У РАСТЕНИЙ С ИЗО- И АНИЗОГИДРИЧЕСКОЙ СТРАТЕГИЕЙ ОТВЕТА

Dynamics of transpiration and water transfer along different paths in roots of plants with iso- and anisohydric strategies under low water potential of root area

Ионенко И.Ф.[1], Воробьев В.Н.[1,2], Сибгатуллин Т.А.[1]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук, Казань, Россия; ionenko@kibb.knc.ru*
[2] *ФГОАУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия*

Регуляция транспорта воды играет ключевую роль в процессах роста и развития растений. Большинство абиотических стрессовых факторов вызывают дегидратацию растительных тканей. Избежать дегидратацию растения могут путем снижения потери воды листьями в процессе транспирации (закрытия устьиц), либо абсорбируя больше воды из почвы, увеличив гидравлическую проводимость корней. Регуляция этих процессов должна протекать по-разному у растений с различной стратегией ответа на водный стресс: изогидрических – способных сохранять водный потенциал своих тканей почти неизменным путем быстрого закрытия устьиц, и анизогидрических – отвечающих на снижение влаги в окружающей среде дегидратацией тканей. Из-за слабого контроля устьичной проводимости анизогидрические растения могут испытывать больший риск при засухе.

В данной работе проведена сравнительная оценка интенсивности транспирации, относительного содержания воды в листьях, диффузионного транспорта воды в корне по симпласту и трансмембранным путем у растений кукурузы (сорт Машук) и двух сортов пшеницы (озимая Казанская 560 и яровая Казанская Юбилейная) в условиях резкого ПЭГ-индуцированного снижения водного потенциала (-0.4 и -0.5 МПа) корнеобитаемой среды во временном интервале от 0 до 3-4 часов. Обнаружена различная динамика транспирации у исследованных культур при разных уровнях водного стресса. Различия между культурами обнаружены в суммарной водопроницаемости корней и в динамике изменения симпластного и трансмембранного переноса воды, оцененных методом ЯМР-диффузометрии, при снижении водного потенциала среды. Показано, что разные сорта пшеницы по-разному отвечали на действие осмотика: быстрое снижение интенсивности транспирации у озимой пшеницы (изогидрическое поведение) коррелировало с повышением трансмембранного переноса воды в корнях вследствие повышения активности аквапоринов. Изменения оводненности листьев были связаны не только с интенсивностью транспирации, а коррелировали с изменением суммарной водопроницаемости корней.

Выявленные различия в характере и динамике ранних ответов показателей водообмена в условиях осмотического стресса могут служить критерием при определении стратегии ответа (изо-, анизогидричность) разных сортов растений на водный дефицит и их засухоустойчивости.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 13-04-01203.

ОЦЕНКА ВКЛАДОВ СИМПЛАСТНОГО И ТРАНСМЕМБРАННОГО ПЕРЕНОСА ВОДЫ В КОРНЕ В УСЛОВИЯХ ВОДНО-СОЛЕВОГО СТРЕССА

Estimation of contribution of symplast and transmembrane water transfer in roots under water-salt stress

Ионенко И.Ф., Сибгатуллин Т.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук, Казань, Россия; ionenko@kibb.knc.ru

По общепринятым представлениям, понижение водного потенциала корнеобитаемой среды (в частности, при водно-солевом стрессе) приводит к снижению гидравлической проводимости корней (L_p), что обеспечивает уменьшение потерь воды во внешнюю среду и поддержание водного баланса растения в целом. Обычно снижение L_p связывают с уменьшением активности и/или численности аквапоринов – мембранных водопроводящих каналов. Однако такая корреляция наблюдается не всегда. Показано, что активность аквапоринов может сильно различаться у разных видов растений, а также в зависимости от интенсивности и продолжительности воздействий. Кроме того, L_p, являясь интегральной величиной, отражает интенсивность переноса водных растворов по разным путям в ткани (апопласту, симпласту, через мембраны), вклад которых при стрессах также может меняться.

В данной работе для сравнения эффектов водного и солевого стрессов в рамках изменения водопроницаемости межклеточных путей переноса, исследовалось влияние разных осмотиков (ПЭГ-6000 и NaCl) с одинаковым осмотическим давлением (-0.4 МПа) на корни интактных 7-дневных проростков кукурузы во временном интервале от 0 до 5 часов. Об изменениях водопроницаемости судили из измерений эффективного коэффициента диффузии воды D_{ef} методом ЯМР-диффузометрии в сочетании с ингибиторным анализом (выявление роли аквапоринов) и парамагнитным допингом (контрастирование водопереноса по симпласту). Исследована динамика суммарной водопроницаемости корней при измерении непосредственно во время воздействия на них осмотиков, а также их последействие, и оценен вклад разных транспортных путей для воды (симпласт, аквапорины, липидная фаза мембран) в изменение проводимости корней у транспирирующих растений и у растений с отсеченной надземной частью. Обнаружены различия в суммарном переносе воды при действии осмотиков различной природы, но одинаковой осмотической силы. Общей (неспецифической) составляющей ответа на разные осмотики было усиление трансмембранного водопереноса, обусловленного повышением активности аквапоринов. Изменения в симпластном переносе носили более специфический характер: его вклад мало изменялся при ПЭГ-индуцированном водном стрессе, а при действии NaCl – уменьшался. Изменения в симпластном переносе были различны для целых растений и растений с удаленной надземной частью. Повышение мембранной водопроницаемости при осмотическом стрессе не сопровождалось увеличением уровня перекисного окисления мембранных липидов.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 13-04-01203.

ТРАНСКРИПТОМНЫЙ АНАЛИЗ РАЗВИТИЯ ГРАВИТРОПИЧЕСКОГО ОТВЕТА В ЛИСТЬЯХ ТОМАТА

Transcriptome analysis of development of gravitropic response in tomato leaves

Кабачевская Е.М., Мисюкевич А.Ю., Волотовский И.Д.

Государственное научное учреждение «Институт биофизики и клеточной инженерии Национальной академии наук Беларуси» , Минск, Республика Беларусь; lmbc@ibp.org.by

Направление роста органов растений играет ключевую роль в их ориентации в пространстве по отношению к источникам разнообразных внешних стимулов. Оно изменяется за счет ассиметричного роста противоположных участков органа, в результате чего происходит изгиб (гравитропический, фототропический и т.п.) и орган поворачивается в нужном направлении (либо в сторону стимула (положительный ответ), либо в сторону, противоположную стимулу (отрицательный ответ)). Процесс развития ростовых тропических реакций растений изучен главным образом на биохимическом уровне, связанным с работой систем транспорта, перераспределения и изменения концентрации фитогормонов, трансмембранного потенциала, углеводного состава клеточной стенки, седиментации амилопластов (в случае гравитропизма) и т.п. Данных об изменении экспрессии генов (в том числе на транскрипционном уровне), кодирующих белки, участвующие в контроле и развитии этих изменений на внутриклеточном, органном и организменном уровнях, очень мало и они не составляют целостной и полной картины. При этом именно понимание функционирования генетического аппарата, контролирующего ростовые реакции, дает исследователям и практикам наиболее ценную информацию об управлении ростовыми процессами, что может быть использовано при решении практических задач в интересах сельского хозяйства и медицины.

Особый интерес вызывают молекулярно-генетические механизмы развития сравнительно малоизученного явления отрицательного гравитропизма надземных органов растений. В связи с этим, целью данной работы было изучение экспрессии на транскрипционном уровне генов ключевых ферментов, участвующих в регуляции ростовых реакций растений.

С помощью метода ОТ-ПЦР в режиме реального времени исследовано влияние гравистимуляции (поворот растений на 90º относительно гравитационного вектора Земли) на относительный уровень экспрессии генов-кандидатов контроля гравитропизма, кодирующих белки, участвующие в регуляции процессов метаболизма и сигнализации ростовых фитогормонов, в ремоделировании клеточной стенки, и отвечающих за перестройки клеточных мембран. Гравистимуляция и оценка относительного уровня экспрессии проводилась на растениях томата, предадаптрированных к росту в темноте для исключения возможного влияния светового сигнала на развитие гравитропической реакции. Обнаружено, что на ранних этапах развития гравитропизма (до 3 часов после начала стимуляции) в клетках листьев томата наблюдается изменение относительного уровня экспрессии генов альфа-глюкозидазы, бета-глюкозидазы, альфа-экспансина, фосфоинозитид-зависимой фосфолипазы С, фосфолипазы D, Н-АТФазы, Са-АТФазы, флиппазы, цитокининовой оксидаза/дегидрогеназы, белка семейства DELLA GAI1, транспортеров ИУК (SIPIN1 и LAX1), рецептора ауксина TIR1, регуляторов клеточного цикла (циклинов A1, B2, D3, циклин-зависимой киназы). Полученные данные свидетельствуют о важной роли транскриптома клеток в развитии гравитропизма надземных органов растений, что следует из данных по экспрессии генов, кодирующих белки, участвующие в регуляции метаболизма углеводов, глюкозидов, регулирующих взаимодействие элементов клеточной стенки, процессы фосфолипидной и фитогормональной сигнализации, трансмембранного транспорта ионов и фосфолипидов, а также пролиферации клеток.

Обсуждается роль транскриптомного пула клеток в развитии гравитропизма в надземных органах растений, проявляющейся на уровне чувствительности экспрессии генов.

ДЕЙСТВИЕ ФИТОГОРМОНОВ И СЕЛЕНА НА РОСТ И ПРОДУКТИВНОСТЬ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ

Effects of phytohormones and selenium on growth and productivity *of Solanum tuberosum*

Кагина Н.А., Хрянин В.Н., Кохтырева Г.Н.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Пензенский государственный университет», Пенза, Россия; viktor.khryanin@gmail.com

Картофелеводство одно из важнейших направлений в овощеводстве Поволжья и Пензенской области в частности. К сожалению урожайность картофеля в естественных условиях остается относительно низкой. Селекционные и химические методы не всегда решают проблемы повышения продуктивности растений. Поэтому для этих целей используют современные методы биотехнологии – культуры клеток и тканей, методы биоинженерии. Для решения данного вопроса применяют фитогормоны и микроэлементы. В задачу работы входило изучения влияния ауксина (ИУК), цитокинина (6-БАП) и селената натрия (Na_2SeO_4) на рост, развитие и урожай клубней картофеля сорта Каратоп. Это раннеспелый сорт, районированный в области, высокоурожайный с довольно крупными клубнями. Первоначально в лабораторных условиях были определены наиболее эффективные концентрации растворов препаратов для прорастания клубней картофеля, а именно для ИУК – 20 мг/л, 6-БАП – 15 мг/л, селената натрия – 3 мг/л. Обработку клубней проводили путем их замачивания в растворах фитогормонов и микроэлемента селена (контроль – в воде) в течение 24 ч. После этого клубни картофеля высаживались в почву (светло-серые лесные). В каждом варианте полевых опытов было по 10 растений, повторность 4-х кратная. Во-первых, выяснено, что всходы растений в опытных вариантах появились на 3-5 дней раньше контрольных (в варианте с цитокинином на 5 дней). Плученные результаты показали, что все препараты стимулировали рост растений в высоту на 15-20 см по сравнению с контролем. Очень важно отметить, что фитогормоны, и особенно циткинин, а также селенат натрия ускоряли прохождение всех основных фаз развития растений (бутонизация и цветение) на 4-10 дней по сравнению с контрольными растениями. Это очень важно при раннем сборе урожая клубней картофеля. Самое главное, что ауксин, селенат натрия и цитокинин повышали урожайность клубней картофеля соответственно на 16, 32 и 36% по сравнению с контролем. Важно подчеркунть, что это увеличение происходит за счет числа крупных клубней (контроль – 10 шт, ИУК – 12 шт, 6-БАП – 17 шт, селен 15 шт в кусте). Если перевести на 1 га, то урожайность клубней картофеля в контрольном варианте составила 250 ц/га, с ауксином – 290 ц/га, с цитокинином - 340 ц/га, а варианте с микроэлементом селеном – 330 ц/га. Таким образом все фитогормоны и микроэлемент селен оказали положительное влияние рост, развитие и урожайность растений картофеля. Эти препараты можно рекомендовать в целях повышения урожая клубней фермерским хозяйствам, при выращивании картофеля на приусадебных и дачных участках.

ВЛИЯНИЕ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ХРАНЕНИЯ СЕМЯН ОЗИМОЙ ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЫ, РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ МОРФОТИПОМ ЗАРОДЫША, НА ИХ ВСХОЖЕСТЬ В УСЛОВИЯХ ВОДНОГО СТРЕССА

Effect of storage duration on winter durum wheat seeds germination under water stress

Казакова А.С.

Азово-Черноморский агроинженерный институт ФГБОУ ВПО «Донской аграрный университет», Зерноград, Ростовская обл., Россия; Kasakova@inbox.ru

Биологические свойства семян в значительной степени определяются особенностями морфологического строения зародышей, так как нестабильность весенне-летнего периода по гидротермическим условиям приводит к формированию на материнском растении разнокачественных семян, которая оказывает влияние на их посевные качества. Шевченко (1974) выделил семь различных морфотипов зародыша (МТЗ) семени озимой мягкой пшеницы, которым были присвоены номера с 1 по 7-й, и показал, что для изученных сортов характерно преобладание семян с 2-м и 5-м МТЗ, а в минимуме присутствуют семена с 4-м МТЗ. При этом у изученных им сортов соотношение семян с различными МТЗ несколько отличается. В ходе анализа семян озимой твердой пшеницы нами был дополнительно выделен и описан еще один МТЗ (Казакова, Лысогоренко, 2014), близкий по морфологии к МТЗ 1, поэтому ему дали номер 1-а, чтобы не нарушать принятую в литературе нумерацию морфотипов. Было показано, что по соотношению семян с разным МТЗ озимая твердая пшеница отличается от мягкой: у нее преобладающими являются 2-й и 4-5-й МТЗ, а в минимуме семена с 3-м МТЗ. Семена с разным МТЗ существенно различались по всхожести и динамике прорастания. Известно, что через 7-8 лет хранения семян пшеницы начинает снижаться их всхожесть. Однако особенности изменения посевных свойств семян в процессе хранения с различным МЗС не были изучены. В связи с тем, что для южных регионов возделывания озимых пшениц в нашей стране характерна почвенная осенняя засуха, ***целью*** данного исследования явилось изучение влияния продолжительности хранения семян озимой твердой пшеницы засухоустойчивого сорта Дончанка, которые отличаются морфотипом зародыша, на их всхожесть в условиях оптимального и недостаточного увлажнения. Для этого из партий семян 2007 (по гидротермическим параметрам весенне-летнего периода вегетации растений - острозасушливый), 2008 и 2013 (умеренно засушливые), 2009 (оптимальный) годов отбирали семена восьми морфотипов и определяли массу тысячи семян и соотношение семян с разным МТЗ. Затем семена проращивали (в 2014 г) в рулонах фильтровальной бумаги на воде (контроль) и на 0,2 М растворе сахарозы (засуха; осмотическое давление 8,3 атм.) при +20°С. Всхожесть семян определяли через 7 сут проращивания согласно ГОСТ. Таким образом, были получены данные по семенам, которые хранились в комнатных условиях 5, 6 и 7 лет, а для сравнения служили свежие семена урожая 2013 г.

Установлено, что семена сорта Дончанка имеют общий характер распределения семян по МТЗ независимо от года репродукции семян, а различия между семенами разных лет репродукции имеют количественное значение. В среднем за четыре года содержание семян с МТЗ 1-а, 1, 2, .., 7 составило 19, 8, 18, 6, 11, 25, 8 и 6%, соответственно. Самыми многочисленными являются семена, имеющие МТЗ 1-а, 2-го 5-го типов, а в минимуме оказались семена с МТЗ 1, 3 и 7-го типов. По массе тысячи семян выделились семена 2-го и 5-го типов, имеющие значения массы 38 и 39,8г, а семена 1-а и 6-го МТЗ были самыми легковесными и имели М1000 32,1 и 30,7 г. Таким образом, семена основных по количеству фракций являются и самыми выполненными.

В условиях оптимального увлажнения всхожесть свежих семян всех восьми МТЗ имела близкие значения; разница между максимальным и минимальным значением составила 14%. В процессе хранения всхожесть семян с различными МТЗ снижается неравномерно: через 5 лет хранения разница между максимальной и минимальной всхожестью отдельных МТЗ составила 28%, через 6 лет – 32%, а через 7 лет – 35%. Наиболее чувствительными к длительному хранению оказались семена минорных 1-а, 6-го и 7-го МТЗ. Во всех партиях семян максимальную всхожесть имели семена 2 и 3-го МТЗ, а вот семена самого многочисленного 5-го МТЗ имели среднюю всхожесть.

В условиях водного стресса у всех семян всхожесть снижается, но в разной степени в зависимости от МТЗ. У свежих семян размах значений всхожести между крайними значениями составляет 15,1%, у семян после 5, 6 и 7-ми лет хранения она составляет 58,5, 63,9 и 75,2%, соответственно. Наибольше снижение устойчивости к дефициту влаги при прорастании отмечено для семян с МТЗ 1-а, 1, 6 и 7. Семена самых многочисленных 2 и 5-го МТЗ оказались самыми устойчивыми к засухе. Семена сорта Дончанка с МТЗ 5 независимо от года репродукции семян снижали всхожесть в условиях водного стресса на 1,4..6,2%. Таким образом, семена озимой пшеницы сорта Дончанка представлены 8-ю морфотипами, которые отличаются по массе, всхожести и устойчивости к водному стрессу. Длительное хранение приводит к неравномерному снижению всхожести семян с различным МТЗ в условиях оптимального увлажнения, а также к различному снижению их устойчивости к водному стрессу в период прорастания.

ОБ ОБРАЗОВАНИИ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ У СОРТОВ ГРЕЧИХИ С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ ПЛОИДНОСТИ

On the formation of phenolic compounds in buckwheat cultivars with various ploidy levels

Казанцева В.В., Гончарук Е.А., Загоскина Н.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; k.v.-90@mail.ru

Фенольные соединения относятся к вторичным метаболитам высших растений. Наибольшее их количество и более разнообразный состав характерны для надземных органов, что может быть следствием формирования в зеленых клетках растений хлоропластов, являющихся одним из важнейших мест биосинтеза полифенолов. При этом различные представители высших растений значительно отличаются по биосинтетической способности. К числу фенол-накапливающих культур относится гречиха посевная (*Fagopyrum esculentum* L.). Именно из нее в России получает рутин (кверцетин-3-О-рутинозид), относящийся к классу флавонолов. Препараты на его основе успешно используют при лечении сердечно-сосудистой системы, а также других заболеваний. В связи с этим изучение особенностей образования фенольных соединений в этой важной крупяной и медоносной культуре, а также поиск подходов для повышения ее продуктивности является важным и актуальным научным направлением.

Целью исследования являлось изучение особенностей образования фенольных соединений на начальных этапах онтогенеза растений гречихи с различным уровнем плоидности (диплоидный и тетраплоидный). Этот аспект представляет несомненный интерес, поскольку до сих пор нет ясности в вопросе о взаимосвязи между уровнем плоидности растительных клеток и их способностью к образованию фенольных соединений.

Объектом исследования являлись проростки диплоидного (Девятка) и тетраплоидного (Большевик 4) сортов гречихи посевной (*F. esculentum* L.). Растения выращивали в камере фитотрона ИФР РАН в течение 14 дней при 24°С и 16 ч фотопериоде.

Фенольные соединения извлекали из семядольных листьев и гипокотилей 96%-ным этанолом. В этанольных экстрактах определяли суммарное содержание фенольных соединений спектрофотометрическим методом (с реактивом Фолина-Дениса), а также методом ВЭЖХ (хроматограф фирмы Agilent Technologies (модель 1100), укомплектованный проточным вакуумным дегазатором G1379A, 4-х канальным насосом градиента низкого давления G13111A, автоматическим инжектором G1313A, термостатом колонок G13116A, диодноматричным детектором G1316A, флуоресцентным детектором G1315B). Для анализа использовали хроматографическую колонку «ZORBAX» SB-C18 размером 2,1 × 150 мм, заполненную октадецилсилильным сорбентом, зернением 3,5 мкм. Скорость подачи подвижной фазы 0,25 мл/мин; градиентный режим хроматографирования: элюент А – 0,6% водный раствор трифторуксусной кислоты, В – метанол, С - 0,6% раствор трифторуксусной кислоты в 70% водном метаноле. Рабочее давление элюента 240-300 кПа; температура термостата колонки 35°С; объем пробы 5 мкл. Параметры детектирования: для фенолокислот и их производных - 313 нм, для флавонолов - 350 нм, для флавонов - 371 нм.

Результаты, полученные при определении суммарного содержания фенольных соединений показали, что как в семядольных листьях, так и гипокотилях проростков сорта Девятка их уровень был ниже, чем у сорта Большевик 4 (на 23% и 29%, соответственно). Это свидетельствует о том, что для тетраплоидного сорта гречихи характерна более высокая биосинтетическая способность в отношении образования полифенолов.

В составе фенольных соединений, экстрагируемых из надземных органов гречихи этанолом, методом ВЭЖХ идентифировали хлорогеновую кислоту, изоориентин, ориентин, рутин, а также изовитексин и витексин. Их накопление в семядольных листьях было выше у тетраплоидного сорта, по сравнению с диплоидным: витексина и изовитексина - на 54%, ориентина, изоориентина и рутина - на 67%, 68% и 63% соответственно, а хлорогеновой кислоты - на 80%. В гипокотилях содержание этих веществ было ниже, чем в семядольных листьях. При этом по количеству гликозидов флавонов (ориентин, изоориентин, витексин и изовитексин) различий между сортами не отмечено, тогда как накопление фенилпропаноидов (хлорогеновая кислота) и флавонолов (рутин) было значительно выше у тетраплоидного сорта (на 79% и 66% соответственно, по сравнению с диплоидным сортом).

Из всего вышеизложенного следует, что на ранних этапах онтогенеза растений гречихи существует прямая взаимосвязь между уровнем плоидности клеток и их способностью к накоплению фенольных соединений.

ВЛИЯНИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА РАЗВИТИЕ ЭЛЕМЕНТОВ КОРНЕВОЙ СИСТЕМЫ ВИНОГРАДА

The effects of physiologically active compounds on the development of elements of grape root system

Казахмедов Р.Э., Шихсефиев А.Т.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Дагестанская селекционная опытная станция виноградарства и овощеводств, Дербент, Республика Дагестан, Россия; l: dsosvio@mail.ru

Первое появление филлоксеры в Европе Отмечено в 1862–1863 гг. С этого времени, т.е. уже более 150 лет, филлоксера остается основным и наиболее опасным вредителем виноградной лозы, вследствие чего филлоксерная проблема не сходит с повестки дня многочисленных конференций и съездов, посвященных виноградарству, и определяет направление работ многих научно-исследовательских учреждений в странах промышленного виноградарства.

Таким образом, несмотря на усилия научного мира по решению данной проблемы в течение продолжительного времени, она остается актуальной. Следует признать, что разработка эффективных методов повышения устойчивости виноградного растения к филлоксере должна основываться на глубоком изучении и знании влияния физиологически-активных соединений как на анатомию, физиологию, биохимию винограда, так и филлоксеры и учете особенностей гормональной системы виноградного растения в целом.

Главная наша мысль заключается в том, чтобы не использовать термин «борьба» при разработке способов повышения продуктивности и срока эксплуатации филлоксерных насаждений винограда, а ориентироваться на «сосуществование винограда с филлоксерой». Прежде всего, потому, что специализация филлоксеры дошла так глубоко, что, чтобы уничтожить вредителя приходится вредить самому растению.

Цель исследований - разработка физиологических основ и агроэкономически целесообразных способов применения физиологически активных соединений для увеличения срока эксплуатации корнесобственных насаждений винограда в зоне сплошного заражения филлоксерой

Исследования на модельных растениях винограда показали, что отечественный препарат цитокининового действия ЦАС может служить физиологическим фактором дистанционной декапитации корней и, следовательно, фактором стимуляции развития боковых корней и изменения соотношения корней различного диаметра.

Установлено, что чем хуже развита корневая система к моменту обработки, тем сильнее влияние препарата ЦАС на развитие корневой системы. Препарат ЦАС также повышает величину прироста длины корней и показатель соотношения длины корень/побег. При совместном его применении с препаратами НАС и ЭАС проявляется синергетический эффект. Все эти изменения могут лежать в основе повышения устойчивости винограда к филлоксере.

Различная реакция на совместное применение ФАС сортов Агадаи (восприимчивый) и Первенец Магарача(толерантный), видимо, лежит в их различной способности формировать элементы корневой системы, в т.ч. при воздействии повреждающих факторов.

Результаты вегетационных и полевых исследований свидетельствуют о перспективности применения изучаемых ФАС для восстановления нормального роста и функционирования корневой системы у поврежденных и угнетенных филлоксерой растений винограда, и, соответственно, повышения устойчивости винограда к корневой форме филлоксеры и увеличения срока эксплуатации корнесобственных насаждений.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ПРОДУКТИВНОСТИ И УСТОЙЧИВОСТИ ВИНОГРАДА К ФИЛЛОКСЕРЕ

Physiologically active compounds for increase of efficiency and resistance of grapes to phylloxera

Казахмедов Р.Э., Шихсефиев А.Т.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Дагестанская селекционная опытная станция виноградарства и овощеводств, Дербент, Республика Дагестан, Россия; dsosvio@mail.ru

Филлоксера вызвала одну из самых страшных катастроф в истории земледелия – уничтожила около 6 млн. га виноградников за 20-30 лет в 19 веке.

Цель исследований - разработка способов повышения устойчивости корнесобственных насаждений винограда к филлоксере путем применения физиологически активных соединений (ФАС).

В результате анализа экспериментального материала по изучению развития корневой системы модельных растений выделен как перспективный для повышения устойчивости к филлоксере отечественный препарат цитокининового действия (ЦАС). Задача исследования - изучить влияние препарата ЦАС на урожай и качество продукции винограда сорта Мускат дербентский.

Изучалась эффективность применения регулятора роста на различных этапах эмбриогенеза, в том числе для повышения завязываемости ягод и повышения содержания сахаров в ягодах. При обработке на этапе 1 (до опыления) препаратом ЦАС, количество ягод незначительно повысилось, при этом масса ягод существенно не изменилась, масса грозди и урожайность имели тенденцию к повышению. Важно отметить, что при этом повысилось содержание сахаров в ягодах (на 4,7/100см^3). Значимый эффект в наших исследованиях был получен при дополнительной обработке соцветий раствором, содержащим ГК 25 мг/л + Str 400 мг/л. Он выражается в повышении количества ягод в грозди (на 60%), в некотором увеличении массы ягод, соответственно, в значительном увеличении массы грозди (в 1,6 раза) и повышении урожайности (на 40 ц/га).

При обработке на этапе 2 (опыление и оплодотворение) препаратом ЦАС, количество ягод не изменилось, масса ягод снизилась (в 2 раза), в связи с этим снизились масса грозди и урожайность. Дополнительная обработка ГК 25 мг/л + Str 400 мг/л ухудшила формирование генеративных органов, соответственно количество ягод, масса грозди и урожайность значительно снизились. Однако содержание сахара также повысилось (на 5,8/100 см^3). Вышеописанные эффекты были вызваны влиянием физиологически активных соединений на формирование семян, а именно - угнетением развития зародыша в период оплодотворения.

При обработке на этапе 3 (постоплодотворение) значительно повысилось количество ягод в грозди, особенно при дополнительной обработке ГК 25 мг/л + Str 400 мг/л (в 2 раза). В этой связи, значительно повысилась масса грозди (в 2 раза), урожайность (в 2,1 раза) Важно отметить, что содержание сахаров повысилось (на 2,9/100 см^3), но в меньшей степени, что вероятно связанно со значительным повешением массы грозди и урожайности.

Физиологически активное соединение ЦАС, как перспективный препарат для повышения устойчивости винограда к филлоксере, может быть средством повышения урожайности и качества продукции сорта Мускат дербентский, особенно, при применении на этапе постоплодотворения. Для практического внедрения результатов исследований необходимо проведение дальнейших исследований на уровне кустов в производственных условиях.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ К КАДМИЮ

Molecular-genetic mechanisms of barley plants cadmium tolerance

Казнина Н.М., Титов А.Ф., Лайдинен Г.Ф., Батова Ю.В., Топчиева Л.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия; kaznina@krc.karelia.ru

Вопросы устойчивости растений к различным стресс-факторам, включая тяжелые металлы, многие годы находятся в центре внимания физиологии растений. В последние десятилетия особенно активно изучаются клеточные механизмы устойчивости, среди которых важная роль принадлежит связыванию ионов тяжелых металлов в цитоплазме различными хелаторами с образованием комплексов и транспорт этих комплексов и свободных ионов в вакуоль с участием трансмембранных белков. Однако, несмотря на уже достигнутые успехи, эти исследования требуют продолжения и углубления. В этой связи нами проведено изучение некоторых молекулярно-генетических механизмов устойчивости растений ячменя к кадмию, который является наиболее токсичным представителем группы тяжелых металлов.

Исследования проводили на 7-дневных проростках ячменя (*Hordeum vulgare* L.) сорта Зазерский 85, которые, как показано нами ранее, обладают высокой устойчивостью к кадмию. После 4-суточной экспозиции на питательном растворе, содержащем 100 мкМ кадмия (опыт), в корнях растений определяли содержание глутатитона (GSH) и фитохелатинов (ФХ) методом ВЭЖХ. С использованием метода ПЦР в режиме реального времени анализировали количество транскриптов генов, продукты которых участвуют в хелатировании ионов кадмия в цитоплазме клеток (*HvGS*, *HvPCS*, *HvMT1* и *HvMT2*), а также способствуют их транспорту в вакуоль (*HvHMA3, HvCAX2*, *HvVHA E* и *HvVHA c*).

В результате исследований обнаружено, что в присутствии кадмия в корнях растений значительно возрастает уровень транкриптов гена *HvGS*, при этом повышалось и содержание GSH, свидетельствуя об усилении его синтеза. Поскольку GSH является предшественником ФХ, а также одним из важных компонентов антиоксидантной системы растений, быстрый запуск синтеза его молекул и увеличение их содержания в клетках, очевидно, способствует повышению устойчивости растений к этому металлу. Наряду с этим у опытных растений возрастало количество транскриптов гена *HvPCS* и увеличивалось общее содержание ФХ, которые связывают ионы металла в цитоплазме, снижая таким образом их токсичность. При высоких концентрациях тяжелых металлов в корнеобитаемой среде в клетках растений может также возрастать содержание низкомолекулярных белков металлотионеинов (МТ), что, как предполагается, в большей степени характерно для более металлоустойчивых видов (сортов, генотипов). В наших исследованиях у опытных растений увеличивалось количество матриц генов *HvMT1* и *HvMT2*. Поскольку синтез МТ имеет up-регуляцию, при которой усиление экспрессии гена приводит к возрастанию количества соответствующего ему белка, можно полагать, что содержание этих белков в клетках повышалось.

Другим важным механизмом устойчивости растений к кадмию является изоляция его ионов в вакуоли клеток с участием трансмембранных белков-переносчиков. Среди них – белки, осуществляющие перенос свободных ионов тяжелых металлов через тонопласт за счет энергии АТФ, в том числе HMA3 (*heavy metal ATFase*), или за счет энергии протонного градиента в симпорте с H^+, как, например, CAX2 (*cation/proton exchanger*). Нами обнаружено, что в присутствии кадмия у растений ячменя в 3 раза увеличивается уровень транскриптов гена *HvCAX2*, тогда как количество матриц гена *HvHMA3* не повышается. Поскольку работу симпортеров (в том числе, CAX-белков) обеспечивают протонные помпы тонопласта (которые являются генераторами электрохимического протонного градиента, необходимого для сопряженного транспорта ионов металлов через вакуолярную мембрану) изучение экспрессии генов отдельных субъединиц вакуолярной H^+-АТФазы при действии тяжелых металлов может привести к более полному пониманию механизмов устойчивости, связанных с изоляцией их ионов в вакуоли. Проведенный нами анализ уровня транскриптов генов двух субъединиц вакуолярной H^+-АТФазы показал, что в присутствии кадмия количество транскриптов гена *HvVHA E* в корнях возрастало в 5,5 раз, а *HvVHA c* – в 4 раза. Это согласуется с мнением (Kabała et al., 2010) о том, что устойчивые к тяжелым металлам растения имеют более низкую концентрацию их ионов в цитоплазме благодаря высокой активности вакуолярной H^+-АТФазы и, как следствие, характеризуются усиленным транспортом катионов металлов в вакуоль.

Таким образом, высокая устойчивость проростков ячменя к кадмию обеспечивается наличием и активным функционированием различных молекулярно-генетических механизмов, важное место среди которых занимают способность клеток быстро запускать синтез молекул, связывающих ионы металла в цитоплазме (GSH, ФХ, МТ), а также усиление транспорта оставшихся свободных ионов кадмия из цитоплазмы в вакуоль за счет увеличения активности транспортных белков (в частности, CAX-белков) и вакуолярной H^+-АТФазы.

ВЛИЯНИЕ КОМПОНЕНТНОГО СОСТАВА КОРНЕОБИТАЕМОЙ СРЕДЫ НА РОСТСТИМУЛИРУЮЩИЙ ЭФФЕКТ ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ БАКТЕРИЙ *BACILLUS SUBTILIS*

Influence of the root medium components on plant growth promoting effect of introduced bacteria *Bacillus subtilis*

Калацкая Ж.Н.[1], Ламан Н.А.[1], Кожух Т.В.[1], Братанова М.А.[1], Молчан О.В.[2]

[1] *Государственное научное учреждение «Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича Национальной академии наук Беларуси», Минск, Республика Беларусь, kalatskayaj@mail.ru*

[2] *Государственное научное учреждение «Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси», Минск, Республика Беларусь*

Широкое применение микробиологических препаратов в растениеводческой практике во многом сдерживается нестабильностью положительного эффекта. Как известно, низкая эффективность инокуляции часто обусловлена особенностями взаимодействия микробных популяций в почве, уровнем интеграции микробно-растительного взаимодействия и различными агроэкологическими факторами. Реализация потенциальных возможностей интродуцированных микроорганизмов и максимальная эффективность растительно-микробных взаимоотношений могут быть достигнуты при оптимизации состава и соотношения компонентов и физико-химических свойств корнеобитаемой среды. В то же время закономерности, определяющие оптимальный состав почвогрунтов для эффективного функционирования интегрированных в них микробных систем с целью интенсификации продукционного процесса, остаются невыясненными.

В лабораторных и производственных опытах исследовано влияние компонентного состава бактеризованных торфосмесей, не содержащих элементы питания, на особенности роста и развития растений салата листового (*Lactuca sativa var. crispa*) сорт Афицион и огурца (*Cucumis sativus* L.) сорт Славянский. В торфосмесь, состоящую из нейтрализованного торфа и агроперлита в соотношении (2:1), добавляли культуральную жидкость штамма М 9/6 спорообразующих бактерий *Bacillus subtilis*. Штамм выделен в Институте микробиологии НАН Беларуси и любезно предоставлен сотрудниками лаборатории средств биологического контроля. В отделенную часть бактеризованных торфосмесей добавляли бентонитовую глину (ГОСТ 28177-89) или глину местного месторождения, соответствующую ГОСТ 9169-75, в соотношении 1 г глинистого сырья на 1 л почвогрунта. Растения салата выращивали в лотках под световыми установками в лабораторных условиях или методом проточной гидропоники в производственных условиях овощной фабрики в течение 28 дней (техническая спелость). Учет морфометрических показателей проводили на 14 и 28 день вегетации. Растения огурца выращивали в лотках под световыми установками в лабораторных условиях в течение 3-х недель, учет морфометрических показателей проводили на 10-й и 21-й день вегетации.

Установлена высокая ростстимулирующая активность штамма М 9/6 спорообразующих бактерий *Bacillus subtilis* на растениях салата и огурца. Анализ биометрических показателей 14-ти дневных растений салата и 10-ти дневных - растений огурца, показал, что на бактеризованном почвогрунте увеличивается ширина семядольного листа, длина побега и практически в 3 раза биомасса надземной части растений. У растений салата на 28-й день вегетации длина листьев увеличилась на 72%, содержание фотосинтетических пигментов в пересчете на сухое вещество на 33%, а биомасса побега в 4,7 раза. На 23-й день вегетации длина побегов у растений огурца увеличилась на 27%, а их биомасса на 91% в сравнении с контролем. Инокуляция торфосмеси культуральной жидкостью со споровым материалом бактерий способствовала увеличению массы корневой системы растений салата и огурца.

Включение глинистых материалов в бактеризованную штаммом М 9/6 торфосмесь способствовало активному росту листьев и увеличению биомассы растений салата и огурца, как по сравнению с контролем (торфосмесь), так и по сравнению с бактеризованным почвогрунтом. Однофакторный дисперсионный анализ показал, что растения, формирующиеся на почвогрунте, включающем глинистые компоненты и бактерии *Bacillus subtilis*, превосходят по морфофизиологическим параметрам растения варианта - торфосмесь с бактериальным препаратом. Добавление бентонита или глины в бактеризованную торфосмесь способствует формированию растений салата с длиной побега на 12% и 7% и массой надземной части на 27% и 24% соответственно большей по сравнению с растениями на бактеризованной торфосмеси без глинистого сырья, при этом достоверных различий между вариантами с добавлением глины или бентонита не зарегистрировали.

Таким образом, установлена высокая ростстимулирующая активность штамма спорообразующих бактерий *Bacillus subtilis* М 9/6 (основа биопрепарата Биоактин) на развитие надземной части растений салата листового и огурца, показана зависимость активности бактерий от компонентного состава почвогрунта и положительный эффект на рост и развитие растений введения в состав торфосмеси глинистых компонентов.

ОПТИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ ПРИ ОЦЕНКЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ РАСТЕНИЙ И ДИАГНОСТИКЕ ДЕФИЦИТА ОСНОВНЫХ МАКРОЭЛЕМЕНТОВ

Optical criteria in estimating physiological status of plants and deficiency of basic macroelements

Канаш Е.В., Осипов Ю.А., Русаков Д.В.

Федеральное государственное научное бюджетное учреждение «Агрофизический научно-исследовательский институт», Санкт-Петербург, Россия; ykanash@yandex.ru

Проблема контроля физиологического состояния фитоценозов представляет особую актуальность в XXI веке в связи с загрязнением окружающей среды, прогрессирующей деградацией почв и ухудшением состояния естественных экосистем. В настоящее время без внесения искусственных удобрений невозможно получить высокий урожай, что неизбежно сопровождается загрязнением поверхности нашей планеты. Очевидно, что необходимы меры по сокращению количества вносимых удобрений и ядохимикатов. В области сельского хозяйства комплекс мер по защите нашей планеты от чрезмерного загрязнения получил название точного земледелия, одной из важнейших составляющих которого является диагностика состояния посевов. В системе точного земледелия решение о необходимости и количестве вносимых удобрений должно приниматься с учетом физиологического состояния растений на каждом отдельном участке поля. Для реализации технологии точного внесения удобрений необходим учет пространственного распределения питательных элементов в почве перед посевом и контроль обеспеченности растений основными элементами питания при выполнении подкормок в процессе вегетации. Для успешной реализации технологий пространственно-дифференцированного внесения удобрений необходимо обнаружить участок поля, на котором посев выглядит иначе, чем при оптимальном выращивании; определить, дефицит какого элемента питания стал причиной ухудшения состояния растений на этом участке; оценить необходимость и целесообразность дополнительного внесения удобрений и рассчитать дозу удобрений для каждого из элементарных участков поля. Целью данной работы было изучить специфические и неспецифические изменения оптических характеристик и оценить возможность их использования для выявления растений, страдающих от дефицита азота, фосфора или калия.

Растения яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) выращивали при дефиците азота, фосфора или калия. Спектральные характеристики отраженной от поверхности листьев радиации (400-1000 нм) регистрировали с помощью спектрорадиометрической системы фирмы Ocean Optics (США) с шагом 0,3 нм. О возникновении дефицита питания судили по изменению индексов отражения, характеризующих интенсивность фотосинтетического аппарата растений (индексы хлорофилла, антоцианов, флавонолов, каротиноидов, фотохимический индекс отражения и показатель интенсивности рассеяния радиации листом), а также по появлению или исчезновению максимумов и минимумов на первых производных спектров отражения листьев. Обнаружено, что несбалансированное минеральное питание не только увеличивает отражающую способность листьев, но и вызывает изменение структуры спектров отраженной радиации. Появление одних и тех же дополнительных максимумов и минимумов на производных спектров отражения и одинаковая направленность изменения некоторых индексов характеризуют неспецифическую ответную реакцию растений на недостаток питания и имеет место при дефиците каждого из макроэлементов. Установлено, что на фоне неспецифических изменений при дефиците азота, фосфора или калия происходят также специфические изменения. Например, дефицит азота, фосфора и калия вызвал уменьшение индекса хлорофилла листьев нижних ярусов (неспецифические изменения). Фотохимический индекс отражения у трех сортов пшеницы возрастал при дефиците азота и фосфора, ноне менялся при дефиците калия (специфическая реакция). Можно предположить, что если наблюдается угнетение роста растений и отсутствуют изменения фотохимического индекса отражения, в расчетную формулу которого входят длины волн зеленой и желтой радиации, растения страдают от дефицита калия. К неспецифическим изменениям относится также появление дополнительных максимумов на первых производных спектров отражения (например, при длине волны 389, 393, 405, 406, 409, 413, 440, 452, 508, 532 нм). При дефиците азота появляются дополнительные максимумы отражения при 400, 430, 489, 502, 526, 529, 537, 555, 570 нм. Имеют особенности и оптические характеристики листьев при дефиците фосфора (403, 416, 424, 448, 544, 564 нм) и калия (435, 546, 552 нм). Недостаток питания часто сопровождается накоплением в листьях фенольных соединений, общее содержание которых мы оценивали по величине индексов антоцианов и флавонолов. Обнаружено, что наиболее высокие значения этих индексов характерны для молодых, интенсивно растущих листьев растений, страдающих от недостатка фосфора и калия. Напротив, при дефиците азота величины индексов антоцианов и флавонолов выше у старых листьев, а у молодых листьев даже ниже, чем при оптимальном питании. Анализ полученных результатов позволяет сделать вывод, что для определения типа дефицита, вызвавшего ухудшение физиологического состояния растений, и принятия решения о необходимости их удобрения следует использовать несколько оптических критериев. Описание неспецифических и специфических изменений оптических характеристик растений, возникающие при дефиците азота, фосфора или калия, могут служить основой для проблемно-ориентированной базы данных, предназначенной для мониторинга посевов в системах точного земледелия.

ГЛИКОПРОТЕИНЫ СЕМЕЙСТВА ЛЕКТИНОВ КУЛЬТУРНЫХ И ДИКОРАСТУЩИХ РАСТЕНИЙ НАЗЕМНОЙ И ВОДНОЙ ФЛОРЫ: РОЛЬ В МЕХАНИЗМАХ АДАПТАЦИИ

Glycoproteins of lectin family of terrestrial and aquatic culture and wild plants: role in the mechanism of adaptation

Канделинская О.Л.[1], Грищенко Е.Р.[1], Прохоров В.Н.[1], Судник А.В.[1], Гигиняк Ю.Г.[2], Разлуцкий В.И.[2], Белый П.Н.[3], Мямин В.Е.[4], Казакова Т.С.[4], Марченко Т.А.[4], Голубков В.В.[5]

[1] *Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф.Купревича Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь; okandy@yandex.ru*

[2] *ГНПО «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по биоресурсам», Минск, Республика Беларусь; antarctida_2010@mail.ru*

[3] *Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларуси, Минск; pavel.bely@tut.by*

[4] *Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь; vladmiamin@mail.ru*

[5] *Гродненский государственный университет им. Янки Купалы, Гродно, Беларусь; vgolubkov@tut.by*

Стратегия выживания растений предполагает сохранение жизненного потенциала в стрессовых условиях благодаря в значительной степени неспецифической устойчивости растений к широкому спектру неблагоприятных факторов среды. Среди механизмов данного типа устойчивости растений недостаточно изученным остается вопрос об участии в этом процессе гликопротеинов семейства лектинов, выполняющих регуляторные функции в обеспечении интегральных процессов роста и развития растений. В связи с вышеизложенным, целью данной работы являлось исследование роли лектинов в формировании адаптаций у отдельных представителей культурной и дикорастущей флоры при действии биотических, абиотических, антропогенных факторов среды. В качестве объектов исследований использовали генотипы галеги восточной, различающиеся по срокам весеннего отрастания и продуктивности; генотипы люпина узколистного, различающиеся по срокам вегетационного периода и продуктивности; представителей дикорастущей флоры, собранных в Беларуси и Антарктиде. Установлено, что максимальное значение показателя активности лектинов было характерно для галеги восточной поздних сроков весеннего отрастания и люпина поздних сроков вегетации. В этой группе для растений галеги коэффициенты корреляции *r* между показателями активности лектинов и биомассой 1 побега, активности лектинов и содержанием хлорофилла в листьях составлял в среднем –081 и –0,77, соответственно; для люпина наиболее сильная корреляционная связь наблюдалась между показателями активности лектинов и урожайностью (r= -0,8). Показано, что активность лектинов водных растений ежеголовника, рогоза узколистного и тростника обыкновенного, собранных в озере Белом, которое является эвтрофным водоемом-охладителем Березовской ГРЭС с градиентом температур 4-6°С, также значительно варьировала в зависимости от участка сбора. При этом в растениях, собранных в неподогреваемой части озера, активность лектинов в растениях была в 2 и более раз выше, чем в местах сброса теплых вод. Установлено, что в растениях тысячелистника, золотарника канадского, пижмы, собранных на территории автостоянок г. Минска, показатель активности эндогенных лектинов был более, чем в 2 раза выше, чем в тех же растениях, но выросших в условиях заказника Глебковка Минского района Минской области. Вместе с тем, в растениях крапивы двудомной, собранных на территориях Центрального ботанического сада НАН Беларуси и деревни Вязынка Минской области, уровень активности лектинов не различался. Условия произрастания оказывали также существенное влияние на показатель активности лектинов в лишайниках семейства Пармелиевые. Так, в растениях лишайника Уснеа нитчатая – *Usnea filipendula* L., использующих в качестве субстрата бук, показатель активности лектинов был почти в 2 раза выше, чем у представителей, обнаруженных на ясене. В лишайнике *Cetraria ericetorum* Opiz, собранном на территории деревни Луки Столинского района Брестской области, субстрат - песчаная почва сосняка мшистого, титр активности лектинов составлял 1:8, тогда как у растений, собранных на территории г.п.Озаричи Калинковичского района Гомельской области, субстрат - песчаная почва в сосняке орляковом, данный показатель составлял 1:40. У лишайников, собранных в Антарктиде, наблюдались аналогичные сдвиги активности эндогенных лектинов по сравнению с теми же видами, собранными в Беларуси. Установлено, что величина активности эндогенных лектинов лекарственных растений, собранных вблизи автомобильных дорог, значительно варьировала. Так, у растений подорожника большого и одуванчика лекарственного, произрастающих на расстоянии до 3 м от полотна автомагистрали М5 (М5/Е271, соединяет Минск с Гомелем, совпадает с европейским маршрутом Е 271, доля суммарных техногенных эмиссий довольно высока) данный показатель увеличивался в 3 и более раз. Полученные результаты свидетельствуют об участии эндогенных лектинов в формировании адаптационных механизмов в растениях к действию широкого спектра факторов окружающей среды. В контексте использования лекарственных растений для медицины необходимо проведение мероприятий по стандартизации технологии их выращивания.

Исследования проводились при финансовой поддержке ГПНИ «Природно-ресурсный потенциал», 2011-2015 гг.

БИОЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ АБОРИГЕННЫХ И ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ ХВОЙНЫХ ВИДОВ В УСЛОВИЯХ СРЕДНЕГО ПОВОЛЖЬЯ

Bioelectric parameters of native and introduced species of conifers in Middle Volga Region

Карасев В. Н., Карасева М.А.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение Высшего профессионального образования «Поволжский государственный технологический университет», Йошкар-Ола, Республика Марий Эл, Россия; KarasevaMA@volgatech.net

Изучали особенности формирования биоэлектрических потенциалов (БЭП) и импеданса прикамбиального комплекса тканей аборигенных и интродуцированных хвойных видов, различного возраста и жизненного состояния. Ставилась задача определить информативность биоэлектрических параметров и оценить возможность их использования для ранней экспресс-диагностики физиологического состояния растений и оценки степени их адаптации в условиях глобальных изменений климата и антропогенного воздействия.

Объектами исследования являлись аборигенные древесные породы, сосна обыкновенная. ель европейская и интродуценты, сосна веймутова, сосна горная, сосна сибирская кедровая, лиственница сибирская, псевдотсуга Мензиса, произрастающие в производственных культурах и ботаническом саду ПГТУ.

Проводился анализ биометрических и физиологических показателей, определялись; влажность хвои и побегов, осмотический потенциал клеточного сока хвои, интенсивность фотосинтеза, содержание общего хлорофилла в хвое, БЭП и электрическое сопротивление прикамбиального комплекса тканей (импеданс ПКТ) стволов деревьев. Измерения БЭП производились высокоомным милливольтметром постоянного тока с использованием платиновых электродов (Экстра-999). Импеданс ПКТ измерялся при помощи прибора Ц 4314 на частоте 500 Гц с использованием датчика от электронного влагомера древесины ЭВ–2К с незначительной переделкой; удалением центрального электрода и сохранением двух боковых, подключаемых к прибору для измерения импеданса. Расстояние между электродами 20,0 мм, длина активной части электродов 10,0 мм, диаметр – 1,0 мм.

Установлена высокая взаимосвязь величин биоэлектрических потенциалов с интенсивностью ростовых процессов различных видов в природной среде. Величины БЭП являются интегральным показателем обменных процессов, протекающих в растении, медленно растущие виды, сосна, горная и др. имеет показатели БЭП не превышающие 50 мВ. Наиболее адаптированные к климатическим условиям региона, формирующие устойчивые высокопродуктивные насаждения, быстрорастущие интродуценты (лиственница сибирская, сосна веймутова, сосна кедровая сибирская) имеют значения БЭП близкие к аборигенным видам

Лидирующие деревья всех изученных видов отличаются более высокими значениями БЭП по сравнению с ослабленными и более высокой оводненностью прикамбиального комплекса тканей.

Низкие значения импеданса ПКТ стволов деревьев достоверно указывают на высокую оводненность растительных тканей лидирующих деревьев кедра сибирского, лиственницы сибирской, сосны обыкновенной. Связь между влажностью растительных тканей и величинами импеданса ПКТ очень тесная и обратная ($r = -0,85...-0,90$). При нарушении деятельности корневых систем, водных стрессах значения параметров импеданса ПКТ увеличиваются. Коэффициент детерминации, характеризующий связь жизненного состояния деревьев и показателей импеданса ПКТ равен 0,909.

Среднее значения БЭП здоровых растений сосны обыкновенной в возрасте 10-20 лет составляет 150-200 мВ. В первые годы жизни и период интенсивного роста растения имеют более высокие показатели БЭП, что обусловлено высокой интенсивностью обменных процессов. В 40 летнем возрасте средние деревья имеют значения БЭП 95..100 мВ. У растений лидеров в этом же насаждении значении БЭП достигают 150-200 мВ, у стадийно старых деревьев в возрасте 120-140 лет показатели БЭП снижаются до 40...45 мВ. При использовании для прививки черенков, взятых со стадийно старых деревьев низкое значение БЭП стадийно старых деревьев передается не только части семенного дерева выше места прививки, но и приводит к феномену снижения в 1,5...2 раза величины БЭП на участке ниже места прививки, т.е молодом подвое. Такая же закономерность наблюдается у деревьев лиственницы сибирской, кедра сибирского, сосны веймутовой, интенсивно растущие экземпляры имеют значения БЭП .90...100 мВ, ослабленные 29...40 мВ.

Проведенные исследования свидетельствуют о целесообразности ранней экспресс-диагностики жизненного состояния и отбора перспективных, устойчивых биотипов по импедансу прикамбиального комплекса тканей и биоэлектрическим потенциалам, характеризующих состояние водного режима и интенсивность обменных процессов растений на первых этапах интродукции, что является необходимым мероприятием для повышения биоразнообразия и сохранения средостабилизирующих функций лесных экосистем в условиях глобальных природно-климатических и антропогенных воздействий.

ДЕЙСТВИЕ ЗЕЛЕНОГО СВЕТА НА ОБРАЗОВАНИЕ БИОМАССЫ И ФЕРМЕНТОВ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫМИ ГРИБАМИ

The effect of green light on biomass and enzyme production by biotechnologically important fungi

Карначук О.В., Соколянская Л.О., Глухова Л.Б., Плотников Е.В., Vélëz H., Карначук Р.А.

Национальный исследовательский Томский государственный университет, Институт Биологии, Томск, Россия; olga.karnachuk@green.tsu.ru

Грибы являются важными биотехнологическими агентами. Культивирование съедобных грибов представляет значительный сектор особенно в экономике стран Азии. Различные группы грибов используют как продуценты лекарственных препаратов, ферментов, а также для биоремедиации и проведения биогеотехнологических процессов. Хорошо известно, что свет различной длины волны может контролировать процессы роста и развития у растений. Присутствие рецепторов синего и красного света было показано и для различных таксонов грибов. В настоящее время из литературы известно о попытках использовать свет различной длины волны для увеличения биомассы грибов-продуцентов. Традиционно, основное внимание уделяют синему и красному спектрам. Наши исследования посвящены изучению влияния зеленого света на рост и образование ферментов различными грибами, имеющими потенциал для использования в биотехнологиях.

В данном сообщении будут представлены результаты изучения влияния зеленого света на базидиомицеты: *Lentimua edodes* W4, *Ganoderma lucidum* 34D и *Grifola frondosa* PA-oak, используемым в пищевой промышленности и традиционной медицине в Азии, а также ацидофильным, металл-толерантным аскомицетом *Penicillium* sp. ShG4. Последний был выделен из отходов добычи полиметаллических руд и является перспективным агентом получения соединений меди. В качестве источника света использовали не только люминесцентные лампы и светодиоды, но и узкополосный лазер с длиной волны 532 нм. Скорость образования биомассы была изучена как при поверхностном, так и при глубинном культивировании. Объектом исследования также служили экстрацеллюлярные лигнолитические полифенолоксидазы, включая лакказы (Lcc, EC 1.10.3.2) и пероксидазы (Per, EC 1.11.17 и MnP, EC 1.11.1.13).

Наши результаты свидетельствуют, что зеленый свет может оказывать как стимулирующее, так и ингибирующее действие на образование биомассы грибами. Действие света видоспецифично и зависит от продолжительности экспозиции. В отличие от синего света, зеленый свет не влиял на активность марганецпероксидаз и ингибировал лакказы. Для определения механизмов действия света нами предприняты попытки получения мутантных линий *L. edodes* с использованием *Agrobactreium tumefaciens*. Хотя геном *L. edodes* до сих пор не доступен в базах данных, однако наличие транскриптомов позволит локализацию возможных механизмов, связанных с влиянием света на нокаутные мутанты.

ЗАВИСИМОСТЬ СИНТЕЗА NO В ПРОРОСТКАХ ПШЕНИЦЫ И ИХ ТЕПЛОУСТОЙЧИВОСТИ ОТ КАЛЬЦИЕВОГО СТАТУСА

Dependence of synthesis of NO in wheat plantlets and their heat resistance on calcium status

Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Швиденко Н.В.

Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева, Харьков, Украина
plant_biology@mail.ru

Ионы кальция и оксид азота (NO) являются важными сигнальными посредниками в растительных и животных клетках, между которыми происходит сложное функциональное взаимодействие (Khan et al., 2014). Ca^{2+} и NO участвуют в формировании адаптивных реакций растений на действие стрессоров различной природы. Показано, что экзогенный кальций в низких концентрациях влияет на ритмическую динамику содержания оксида азота в клетках корней проростков гороха (Глянько и др., 2014). Установлено, что один из основных энзиматических продуцентов оксида азота в клетках растений – фермент, подобный NO-синтазе животных – активируется с участием кальция и/или кальмодулина (Lamotte et al., 2004; Courtois et al., 2008). Также известно, что нитратредуктаза, способная генерировать оксид азота, активируется с помощью протеинкиназ, зависимых от кальция (Weiner, Kaiser, 1999; 2000). В то же время показано, что окисление L-аргинина в хлоропластах зеленых водорослей ферментом, гомологичным NO-синтазе животных, не зависит от кальция, хотя аналогичный процесс, происходящий в пероксисомах, является кальцийзависимым (Roster, 2014). В целом сведения о влиянии кальция на содержание NO в различных растительных объектах и на активность соответствующих ферментных систем до сих пор остаются достаточно противоречивыми. Целью настоящей работы было изучение влияния изменений кальциевого гомеостаза на содержание оксида азота и теплоустойчивость этиолированных проростков пшеницы (*Triticum aestivum* L., сорт Элегия).

Для модификации кальциевого статуса проростки в течение 24 ч обрабатывали экзогенным хлоридом кальция в концентрациях 0,5, 5 или 50 мМ, кальциевого ионофора А23187 в концентрации 1 мкМ или смесью 5 мМ $CaCl_2$ и 1 мкМ А23187. Также было исследовано влияние на содержание NO кальциевых антагонистов (500 мкМ ЭГТА, 5 мМ хлорида лантана, 100 мкМ неомицина) и ингибитора фермента, подобного NO-синтазе животных, 2 мМ L-NAME (N^G-nitro-L-arginine methyl ester). Через сутки после воздействия изучаемых соединений на проростки определяли их теплоустойчивость путем повреждающего прогрева в водяном ультратермостате при 46°С в течение 10 мин.

Под влиянием соли кальция в концентрации 0,5 мМ отмечалась лишь тенденция к незначительному повышению содержания NO в корнях в течение первого часа наблюдений. Обработка корней проростков хлоридом кальция в более высоких концентрациях (5–50 мМ) вызывала транзиторное увеличение количества оксида азота в корнях с максимумом через 1–2 ч после начала обработки. Таким же был и характер влияния кальциевого ионофора. Наиболее значительное повышение содержания оксида азота наблюдалось при действии сочетания А23187 и 5 мМ хлорида кальция. Во всех случаях через 6–24 ч после начала обработки проростков экзогенным кальцием и (или) кальциевым ионофором происходило некоторое снижение содержания NO, хотя абсолютные значения превышали величины контроля.

Ингибитор фермента, подобного NO-синтазе животных, L-NAME, в значительной степени угнетал усиление образования NO, вызываемое экзогенным кальцием и (или) кальциевым ионофором. При действии хелатора «внешнего» кальция ЭГТА отмечалось небольшое, но достоверное при p 0,05 снижение количества NO в корнях проростков. Более существенное уменьшение генерации оксида азота корнями пшеницы происходило при их обработке хлоридом лантана, блокирующим кальциевые каналы различных типов. Образование NO также немного угнеталось неомицином, который, связывая фосфатидилинозитолбифосфаты, может ингибировать фосфатидилинозитолспецифичную фосфолипазу С (ФИ-ФЛ С) (Liu et al., 2006) и тем самым препятствовать накоплению продукта реакции – инозитол-1,4,5-фосфата ($ИФ_3$). Считается, что последний влияет на поступление кальция в цитозоль из внутриклеточных компартментов и тем самым активирует многие кальцийзависимые процессы (Lee, Lee, 2008). Обработка корней проростков хлоридом лантана и неомицином частично снимала эффект повышения содержания в них NO, вызываемый экзогенным кальцием.

Под влиянием 5 и 50 мМ хлорида кальция, 1 мкМ кальциевого ионофора А23187 и особенно его комбинации с 5 мМ $CaCl_2$ происходило повышение теплоустойчивости проростков пшеницы. С другой стороны, кальциевые антагонисты и L-NAME в значительной степени нивелировали позитивное действие экзогенного кальция на теплоустойчивость образцов. Таким образом, есть основания полагать, что NO как сигнальный посредник принимает участие в процессах развития теплоустойчивости проростков, индуцируемых действием кальция.

СПЕКТРАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТКАНЕЙ КОЛЕОПТИЛЯ И ЭПИКОТИЛЯ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ

Spectral characteristics of coleoptile and epicotyl tissues of wheat seedlings

Касаткин М.Ю.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского», Саратов, Роосия
kasatkinmy@info.sgu.ru

Изучение качественного изменения светового потока тканями растений, особенностей его распространения в них имеют первостепенное значение для понимания процессов фотоморфогенеза, фотосинтеза и продуктивности растений. Определение спектра поглощения видимой части света тканями, т.е. их спектральной характеристики *in vivo*, представляет интерес с целью идентификации механизмов, регулирующих гомеостаз клеток, тканей и органов растения.

Проводились цитофотометрические исследования спектральных характеристик тканей проростков яровой мягкой пшеницы сорта Саратовская 29. Изменение оптических характеристик тканей колеоптиля при прорастании зерновок соответствует созданию определенного спектрального режима в продольном направлении побега, что позволяет в условиях освещенности формировать нормальный листовой ряд. Выявлена связь между ростом элементов зародышевых метамеров в главной почке проростка с изменением спектральных свойств колеоптиля на свету и в темноте. Наличие сходных спектральных характеристик тканей колеоптиля, выращенных на свету и в темноте, показывает особую значимость в росте и фотосинтезе желтых пигментов. Колеоптиль прекращает рост на свету, сохраняя функцию светопроводимости и обеспечивает возможность поступления света спектрального состава, соответствующего ростовым реакциям (400-500 и 740 нм) и фотосинтезу (430, 450 и 680 нм). В полной темноте, активируя собственные ростовые зоны, колеоптиль существенно ингибирует формирование листьев проростка. Различие спектральных характеристик по зонам колеоптиля позволяет выделить зоны восприятия, проведения и реализации светового потока.

Установлено, что колеоптиль и эпикотиль обнаруживают присутствие нескольких различных пигментных систем. В условиях освещения колеоптиль, являясь оптическим фильтром, поглощает большую часть светового потока и стабилизирует освещенность участков проростка, обладающих большей меристематической активностью. В условиях темноты, напротив, колеоптиль «настроен» на максимальное светопроведение. Эпикотиль содержит пигменты, которые по спектральным характеристикам и литературным данным идентифицированы нами как принадлежащие к криптохромной системе. В условиях темноты эпикотиль, в отличие от колеоптиля, увеличивает свою оптическую плотность, тем самым повышая свою чувствительность к свету. Фоторегуляторные системы колеоптиля и эпикотиля не перекрываются по своим спектральным характеристикам, что в условиях подземного прорастания можно объяснить хроматической адаптацией пигментов.

Систему фоторегуляции морфогенеза проростка пшеницы в целом можно представить в виде классической кибернетической системы с принципом управления по отклонению регулируемой величины сигнала от требуемого значения. Преимущество такой организации системы для проростка состоит в уменьшение отклонения управляемой величины, в данном случае освещенности в базальной части проростка, от требуемого значения и происходит независимо от того, какими факторами оно вызвано - внешними возмущающими воздействиями, изменениями параметров элементов системы фоторегуляции или же изменением задающего воздействия.

Базальная часть колеоптиля, согласно нашим исследованиям, соответствует активному регулятору системы фотоморфогенеза. Вышележащие участки, обладающие светозависимым ростом путем растяжения, очевидно выступают в роли объекта управления. Константность интенсивности света в базальной части колеоптиля этиолированных проростков, независимо от их абсолютной длины, позволяет сделать предположение, что функция активного регулятора состоит в поддержании оптимальной освещенности в фоторецепторных системах. Эта константность достигается анатомо-физиологической трансформацией светопроводящих структур колеоптиля - изменением его общей длины и морфологии клеток, а также кинетикой состава и содержания пигментов. Обратная связь реализуется посредством изменения качества и количества света, поступающего по трансформируемым тканям колеоптиля, выступающих в этом случае в качестве индуцированного оптического фильтра.

ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ В ЛИСТЬЯХ И СТЕБЛЕ ПШЕНИЦЫ

Photosynthetic pigments content dynamics in the leaves and stalks of wheat

Касаткин М.Ю., Гагаринский Е.Л.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского», Саратов, Россия
kasatkinmy@info.sgu.ru

При оценке содержания пигментов фотосинтеза (хлорофиллов *a* и *b*, каротиноидов) у пшеницы чаще используют пластинку листа или ее фрагмент, взятый из средней части. Информация о количестве пигментов в других органах растения, также участвующих в аккумуляции света и синтезе продуктов фотосинтеза, представлена фрагментарно и не отражает в полной мере действительное содержание пигментов в растении. Целью данной работы явилось изучение специфики распределения фотосинтетических пигментов в целом растении. Объектом изучения являлись сорта яровой мягкой (*Triticum aestivum*) пшеницы селекции НИИСХ Юго-Востока (Саратов).

Распределение пигментов в элементах отдельных метамеров оказалось сортоспецифичным. В частности, для листовой пластинки флагового листа в период цветения отмечено как уменьшение содержания хлорофилла *a* к основанию листа, так и его увеличение. Некоторые из изученных сортов обнаруживали максимальную концентрацию указанного пигмента в средней части листовой пластинки. По содержанию хлорофилла *b* наблюдалось иное распределение: минимальные количества пигмента приходились на среднюю часть листа. Максимумы содержания каротиноидов отмечены в основном в средней часть листовой пластинки. Для влагалища флагового листа минимальное содержание хлорофилла *a* и *b* выявлено в его базальной части. Количество каротиноидов либо достоверно не изменялось на всем протяжении органа, либо у некоторых сортов плавно снижалась к основанию. Изучение пигментов фотосинтетического аппарата в колосонесущем междоузлии показало значительное уменьшение их концентрации в его базальной части у большинства сортов.

Сравнение распределения пигментов между элементами одного метамера выявило определенные различия. Так, у тех сортов, где в листовой пластинке наблюдается увеличение концентрации хлорофилла *a* к базальной части, у листового влагалища отмечается уменьшение, и наоборот. Для хлорофилла *b* такая тенденция выражена не столь характерно. Междоузлие отличалась от остальных элементов метамера последовательным уменьшением концентрации всех фотосинтетических пигментов к базальной части.

Содержание пигментов листовой пластинки у изучаемых сортов зависело также от метамерной принадлежности листа. Хлорофилл *a* у всех сортов обнаруживает сходную тенденцию изменения по метамерам: увеличение концентрации до 5-го – 6-го листьев с последующим ее снижением. Максимальные значения концентрации хлорофилла *a* у 5-го – 6-го листьев объясняются зрелостью их фотосинтетических систем. Если у нижележащих листьев уже наблюдаются процессы старения и частичного разрушения фотосинтетических пигментов, то вышележащие листья еще находятся в фазе активного роста и, соответственно, новообразования пигментов. О различной физиологической активности листьев можно судить по содержанию в них хлорофилла *b*. Данный пигмент обнаруживает резкие колебания своей концентрации в различных листьях у изученных сортов.

Изучение содержания пигментов в онтогенезе показало, что к моменту цветения наблюдается тенденция к увеличению количества фотосинтетических пигментов. Так, во флаговом листе у ряда сортов прирост хлорофиллов *a* и *b* составляет до 40%, во влагалище листьев и междоузлиях - в 2,5 и 1,5 раза соответственно. В дальнейшем может наблюдаться снижение содержания фотосинтетических пигментов во всех частях растения, что зависело от погодных условий в период формирования зерновки и степени засухоустойчивости сорта.

Проведенные исследования позволяют рассматривать особенности распределения пигментов фотосинтеза в разных зонах пластинок и влагалищ листьев, междоузлий стебля у сортов яровой мягкой пшеницы как один из механизмов адаптации растений к условиям произрастания.

ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ CO_2-ГАЗООБМЕНА КУСТА ХЛОПЧАТНИКА

Ontogenetic changes of CO_2-gas exchange in whole cotton bush

Каспарова И.С., Расулов Б.Х.

Институт ботаники, физиологии и генетики растений Академии наук Республики Таджикистан, Душанбе, Таджикистан, K.S.Irina@list.ru

В многочисленных исследованиях, проведенных в рамках комплексной теории фотосинтетической продуктивности растений, было установлено, что одним из ведущих факторов, определяющих величину и направленность продукционного процесса, является регуляция донорно-акцепторных отношений на уровне целого растения, так как только целое растение может являться минимальным организменным уровнем организации фотосинтезирующей системы. В связи с этим большой интерес представляет проведение исследований по влиянию эндогенных факторов на ассимиляцию углекислого газа на уровне целого растения.

Для проведения измерений углекислотного газообмена целого растения хлопчатника в Институте ботаники, физиологии и генетики растений АН Республики Таджикистан под руководством ст.н.с. Института физико-химических и биологических проблем почвоведения Российской академии наук, к.б.н. Л.Т. Карпушкина при участии ведущего инженера В.К. Кичитова была разработана и сконструирована термостатированная ассимиляционная камера. Объектами исследования служили растения хлопчатника *Gossypium hirsutum* L. (промышленный сорт 108-Ф) и инбредные линии Л-3 и Л-461. Использованные в работе генотипы отличаются широким разнообразием формы листовой пластинки и продуктивностью.

Анализ результатов измерения онтогенетических изменений интенсивности CO_2-газообмена целого куста хлопчатника показал, что в фазу бутонизации существенных различий в абсолютных величинах между исследованными генотипами не наблюдалось. Максимальная интенсивность фотосинтеза у растений линии Л-3 была на 10% меньше, чем у линии Л-461, а за день куст хлопчатника линии Л-3 поглощал на 20-22% меньше углекислоты, чем растения линии Л-461 и сорта 108-Ф. В эту фазу развития растений не наблюдалось существенных отличий по высоте куста, массе надземной части и площади листовой поверхности. В фазу цветения значение максимального (в течение дня) CO_2-газообмена целого куста хлопчатника сорта 108-Ф было в 2,2 раза и в 1,3 раза выше, чем у линий Л-461 и Л-3 соответственно. Изменение нетто-фотосинтеза целого куста было связано в первую очередь с увеличением площади ассимилирующей поверхности. В фазу плодобразования наблюдалось снижение максимальных и интегральных (за день) значений CO_2-газообмена целого куста у линии Л-461. У линии Л-3 они оставались практически неизменными, но продолжали нарастать у сорта 108-Ф.

Исходя из результатов изучения дневной динамики углекислотного газообмена надземной части растений хлопчатника была построена онтогенетическая динамика фотосинтеза целого куста, с учетом того, что в процессе ночного дыхания листовой поверхности и остальных органов растения выделяется 20-25% поглощенной за день углекислоты и расчитаны величины, характеризующие фотосинтетическую производительность куста за период от цветения до созревания. Фотосинтетическая производительность куста у растений линии Л-3 за этот период превзошла линию Л-461 на 46%, т.е. примерно в той же степени, что и по параметру общей ассимиляционной поверхности. Более высокие показатели фотосинтетической производительности куста у растений линии Л-3, начиная с фазы цветения привели к более высокому биологическому и хозяйственному урожаю, по сравнению с линией Л-461. На растениях линии Л-3 было сформировано почти в 4 раза больше коробочек и выход хлопка-сырца был выше в 1,8 раза, чем у растений линии Л-461. Для обеспечения одной полноценной коробочки растениями линии Л-3 была сформирована меньшая по сравнению с Л-461 ассимиляционная поверхность: 2,4 и 4,5 $дм^2$ соответственно. Фотосинтетическая деятельность целого куста хлопчатника коррелировала с сухой биомассой растений ($r = 0,85$) и с темпами нарастания ассимиляционной поверхности у генотипов, характеризующихся активными ростовыми, в частности морфообразовательными процессами ($r = 0,91$). У линии Л-461, с частично подавленным ростом, увеличение площади листовой поверхности не сопровождалось усилением фотосинтетической функции целого растения ($r = -0,43$). То обстоятельство, что рост ассимиляционной поверхности у линии Л-461 не вызвал повышения нетто-фотосинтеза всего растения, свидетельствует о снижении метаболической нагрузки на единицу фотосинтезирующей площади листа и сопровождалось адекватным уменьшение ее активности.

Таким образом, результаты наших исследований показали, что в период активного роста хлопчатника и отсутствия ограничений со стороны эпигенетических процессов общая площадь ассимиляционной поверхности является главным фактором, определяющими нетто-фотосинтез куста. Происходящее в онтогенезе изменение донорно-акцепторных отношений в системе целого растения приводит к снижению метаболической нагрузки на фотосинтетический аппарат, и является основным фактором онтогенетического контроля активности фотосинтетической функции листа.

УСТОЙЧИВОСТЬ МНОГОЛЕТНИХ РАСТЕНИЙ НА СЕВЕРЕ И РОБАСТНОСТЬ ИХ СУТОЧНОГО РИТМА ФОТОСИНТЕЗА

Hardiness of perennials at northern environment and robustness in their photosynthesis diurnal rhythm

Кашулин П.А., Калачева Н.В.

Полярно-альпийский ботанический сад-институт Кольского НЦ РАН, Апатиты, Россия
falconet1@yandex.ru

Для выяснения влияния глобальных климатических изменений на устойчивость и продуктивность многолетних ресурсных видов растений в субарктических условиях проводили мониторинг эффективности их фотосинтетического аппарата (ФСА) на протяжении вегетативного сезона 2014 в лесопарковой зоне центральной части Кольского севера. Анализировали индикаторные особи аборигенных листопадных деревьев разного возраста: ивы *Salix caprea* L., осины *Populus tremula* L., березы *Betula pendula* Roth и окультуренных интродуцированных кустарников: жимолости съедобной *Lonicera edulis* Turcz. Ex Freyn., жимолости татарской *L. tatarica* L., сирени венгерской *Syringa josikaea* Jacq. fil.. Физиологическое состояние ФСА определяли, измеряя индуцированную импульсно- модулированную флуоресценцию листовых пластинок *in situ* в полевых условиях. Ежесуточно, в полдень и в вечернее время анализировали минимальную F, максимальную – Fm' и переменную Fv= Fm'- F флуоресценцию хлорофилла в естественных световых условиях. Одновременно регистрировали эффективный квантовый выход фотосистемы II: Y(II) = (Fm'-F)/Fm'. Измерения проводили портативным флуориметром PAM-2100, (WALZ, Effetrich, Германия). Источником активирующего света служил светодиод, формирующий импульсы красного света длинной волны 655 нм интенсивностью около 3000 мкЕ/м^2 с$^{-1}$ длительностью 800 мс. Интенсивность измеряющего импульсного света частотой 0,6 кГц или 20 кГц не превышала 5 мкЕ/м^2 с$^{-1}$. Неинвазивность метода обеспечивала получение информации о текущем состоянии ФСА листовых пластинок на всем протяжении наблюдений, с начала их формирования до опадения. Для всех видов выявлена суточная цикличность Y(II), следовательно, и доли, поглощаемой листом световой энергии, используемой для фотохимической конверсии. Вечерние значения Y(II) превышали полуденные в спокойных погодных условиях. Цикличность оказалась устойчивой к температуре окружающей среды, но робастность ее циклов варьировала у разных видов и зависела от возраста дерева. Для ее количественной оценки использовали высоту первых пиков разложения временного ряда значений Y(II) в ряд Фурье. Для молодых деревьев березы и ивы самые высокие значения параметра с 4 августа по 10 сентября соответствовали частотам 0,5 сутки$^{-1}$ и составили 41000 и 42300 циклов соответственно. Цикличность зависла от расположения листа в кроне. Высокая стабильность ритма и длительность пребывания листа на дереве характерна для апикальной части ветви. С увеличением пластохрона листа росла хаотичность многодневной динамики Y(II), а время его пребывания на дереве убывало. Зафиксированные нарушения ритма были обусловлены комплексным стрессовым воздействием, включающим скачки ультрафиолета, которым предшествовали резкие перепады температур. УФ флуктуации регистрировали 17-18 августа после внезапного и резкого похолодания середины августа, мощность потока УФ радиации в условиях древесной кроны, в вечерние часы составляла 9800 мВт/м^2. Это повлекло сбой суточной цикличности фотосинтеза березы с 17 по 20 августа и одиночное изменение ритма ивы 19 числа. Нарушения суточного ритма березы и ивы наблюдали также 29-31 августа и в сентябре. Атмосферные изменения этих дней повлияли на флуоресценцию хлорофилла берез и осин, но не снизили эффективность ФСА культурных кустарников. Жимолость татарская, жимолость съедобная, сирень венгерская обнаружили высокую устойчивость к УФ радиации, интенсивные флуктуации которой не нарушали их циркадный ритм и не снижали многодневный тренд Y(II). Это обусловлено наследственно закрепленной адаптацией интродуцентов к более высокому фону УФ радиации в условиях естественного ареала. Закономерность подтверждена и при сравнении холодостойкости разных видов. Отличающиеся высокой робастностью ритма растение ивы и черемухи сохраняли функционально активные листовые пластинки вплоть до третьей недели октября, в то время, как наблюдаемые деревья березы утратили листву 18 сентября. У хлорофилла не обнаружено признаков деструкции до начала октября, его флуоресценция оставалась в рамках физиологической нормы, характерной для нормальных летних условий. Значительные, но обратимые снижения тренда наблюдали после ночных заморозков 10 и 13 октября. Кратковременные экстремальные воздействия на ФСА носили обратимый характер, последующие устойчивые похолодания с 15 октября привели к монотонному росту и снижению фотохимической конверсии вплоть до ее остановки. Однако, суточная ритмичность Y(II) жимолости съедобной, жимолости татарской и сирени венгерской сохранялась до последней декады октября, когда сильные ночные заморозки вызвали общее резкое падение его тренда. Результаты позволяют предполагать, что циркадианный ритм фотосинтеза обеспечивает не только оптимальные фотопериодические реакции на изменение светового дня, но и повышает общую устойчивость растения к неблагоприятным факторам среды. А физиолого-биохимические механизмы, обеспечивающую слабую температурную зависимость суточного ритма, функционально связаны и с холодоустойчивостью высших растений.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИНЖЕНЕРИЯ ФЕНИЛПРОПАНОИДНОГО ЦИКЛА СОИ ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ К БОЛЕЗНЯМ

Genetic engineering of phenylpropanoid cycle for improvement of inner soybean diseases resistance

Кершанская О.И.[1], Абдулжанова М.А.[1], Есенбаева Г.Л.[1], Нелидова Д.С.[1], Зернова О.В.[2], Лозовая В.В.[2], Видхолм Дж.М.[2]

[1] *РГП Институт биологии и биотехнологии растений Комитета Науки Министерства Образования и Науки Республики Казахстан, Алматы, Казахстан; gen_o.kersh@mail.ru*

[2] *Университет Иллинойса, Урбана, Иллинойс, США; lozovaya@illinois.edu*

В мировом масштабе потери от болезней сои достигают 11% от валовой продукции. Устойчивость растений является экономическим и устойчивым средством управления болезнями. Болезни сои во всем мире, и в Казахстане, в частности, являются одной из серьезных проблем, снижающих ее урожайность до 15%, и изучены совершенно недостаточно. Сильно распространены болезни, вызванные микропатогенами и микрогрибами, такие как ложная мучнистая роса, возбудитель заболевания - микрогриб *Peronospora* manshurica (Naum.); бурая пятнистость листьев, возбудитель болезни - микрогриб *Phyllosticta* sojaecola Mass, *Phytophtora*, а меры борьбы с ними сводятся только к агротехническим мероприятиям. Попытки усилить природные защитные системы, такие как биосинтез лигнина методами генетической инженерии, могут помочь лимитировать колонизацию микропатогенов. Генетическая инженерия компонентов метаболических циклов позволяет получать биотехнологические продукты второго поколения, отличающиеся широким спектром действия – улучшающие комплексную устойчивость растений к стрессам и повышающие урожайность. Одним из важнейших метаболических путей создания вторичных метаболитов в растении является фенилпропаноидный цикл, в частности, формирование лигнина и флавоноидов. Попытки усилить природные защитные системы, такие как биосинтез лигнина методами генетической инженерии, могут помочь лимитировать колонизацию микропатогенов. Лигнин – наиболее значительный полимер на Земле, после целлюлозы. Существует около 10 специфических и 3-5 неспецифических ферментов, вовлеченных в биосинтез лигнина. Ключевыми генами лигнификации являются: *Pt*MYB - из семейства транскрипционных факторов R2R3-MYB. Рекомбинантный MYB протеин вовлечен в регуляцию генов, кодирующих ферменты биосинтеза лигнина, способен индуцировать ген фенилаланин аммония лиазу (*Pal*) – первый фермент фенилпропаноидного цикла, катализирующий деаминацию фенилаланина до получения транс-цинамиковой кислоты. C_4H/F_5H ген – Cinnamate-4-hydroxylase/Ferulate-5-hydroxylase, продукт – протеин (ферулат-5 гидроксилаза) определяет новую семью монооксигеназ, зависимых от цитохрома *P450* в фенилпропаноидном цикле. Применение генов биосинтеза лигнина для генетической трансформации только разрабатывается, для сои неизвестно вообще. Цель исследования: разработать подходы к улучшению природной устойчивости сои к биотическим стрессам и создать устойчивую сою путем генетической инженерии фенилпропаноидного цикла - повышения биосинтеза лигнина – натурального анти-микробного компаунда улучшения борьбы с микро-патогенами, вызывающими болезни. Задачей таких исследований является создание новых разновидностей сои с улучшенной устойчивостью к стрессам для биоразнообразия и селекции.

Предлагаемый способ борьбы с биотическими стрессами сои включает методы клонирования и конструирования генетических конструкций ключевых генов биосинтеза лигнина, с последующей их идентификацией и секвенированием совместно с UIUC, USA; оптимизацию метода germ-line генетической трансформации; скрининг и молекулярную детекцию трансгенов методами ПЦР и РТ-ПЦР; анализ физиологических и биохимических последствий интродукции в сою данных генов; анализ содержания лигнина и метаболический профайлинг полученных трансгенов; анализ устойчивости к микропатогенам; методы характеристики фенологии, морфологии и продуктивности. Результаты: 1) Оптимизированы и применены в генетической трансформации сои генетические конструкции транскрипционного фактора *Cs/MYB4sens.,* основных генов лигнификации 35S/*PAL,* C_4H/F_5H, и др. 2) Оптимизирована биотехнология *Agrobacterium* tumefaciens germ-line генетической трансформации растений сои и интродуцированы ключевые гены биосинтеза лигнина и устойчивости к биотическим стрессам в геном сои 10 американских и казахстанских сортов. 3) Получены и подтверждены методами ПЦР, ОТ-ПЦР, Southern blotting, трансгенные растения сои с встроенными в геном генами лигнификации с эффективностью трансформации 5,63% в первом поколении, T_1 и стабильной трансформацией во втором поколении, T_2. 4) Проведен анализ физиологических и биохимических последствий генетической инженерии сои на устойчивость к стрессам. Исследованы параметры биосинтеза лигнина, - копмаунда, который связан с большим разнообразием физиологических процессов, участвующих в росте и обеспечивающих непроницаемость клеточных стенок, что обуславливает механический барьер и устойчивость к проникновению патогенов в клетки растений, создавая также непроницаемость воды к ксилемным пучкам. Проведено биохимическое подтверждение активизации биосинтеза лигнина у трансгенов сои. Представлен метаболический профайлинг трансгенных растений сои, то есть особое внимание уделено переходу от Генома к Феному в пост-Геномную эру.

ВЛИЯНИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ НА ГИНОГЕНЕЗ *BRASSICA OLERACEA* L.

Effect of plant extracts on gynogenesis of *Brassica oleracea* L.

Киракосян Р.Н., Калашникова Е.А.

ФГБОУ ВО Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А.Тимирязева, Москва, Россия; mia41291@mail.ru

Одним из биотехнологических подходов улучшения растений и ускорения селекционного процесса является культура неоплодотворенных завязей и семяпочек. Однако, в работах этого направления много эмпирики и пока нет глубокого теоретического знания сущности биологических процессов, присущих культивируемому женскому гаметофиту. В частности, недостаток знаний о закономерностях морфогенеза в культуре изолированных завязей в значительной мере тормозит разработку метода. При этом в ряду других проблем наиболее актуальной является изучение факторов, «переключающих» женский гаметофит на незапрограммированный путь развития. Этот вопрос остается открытым для такой важной сельскохозяйственной культуры, как капуста белокочанная.

Исходя из вышеизложенного, целью нашей работы было изучение влияния растительных экстрактов, полученных из репродуктивных органов капусты, на гиногенез *Brassica oleracea* L. *in vitro*. В результате проведенных исследований было установлено, что добавление в состав питательной среды экстрактов с применением в качестве растворителя DMSO повышает процесс морфогенеза в культуре неоплодотворенных завязей капусты белокочанной на 2,4% по сравнению с контрольным вариантом. Экспериментально доказано, что растительный экстракт, полученный из репродуктивных органов определенного генотипа, повышает морфогенетический потенциал изолированных органов только этого же генотипа.

ФИТОПРОТЕКТОРНАЯ РОЛЬ ГУМАТА ПРИ СОВМЕСТНОМ ДЕЙСТВИИ КАДМИЯ И МЕДИ

Phytoprotective role of humat under cadmium and copper co-influence

Кирдей Т.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение Ивановская государственная сельскохозяйственная академия им. академика Д.К. Беляева, Иваново, Россия; t.a.kirdey@mail.ru

В проблеме устойчивости растений к высоким концентрациям солей тяжелых металлов особенности взаимовлияния токсичных ионов наименее изучены, в то время как полиэлементное загрязнение встречается наиболее часто. Известно, что токсическое действие ионов может усиливаться (синергизм) или ослабляться (антагонизм), а также суммироваться (аддитивность). Однако закономерности взаимодействия тяжелых металлов при различных соотношениях и при разных концентрациях остаются не выясненными. Многочисленными исследованиями установлена фитопротекторная роль гуминовых соединений при действии различных абиотических факторов. Снижение токсичности солей тяжелых металлов в присутствии гуминовых веществ связывают с образованием нетоксичных комплексов и уменьшением доступности ионов металлов для растений. В связи с этим, целью исследований являлось изучение влияния гумата, полученного из торфа, на устойчивость пшеницы к совместному действию кадмия и меди, используемым в различных соотношениях.

Объектами исследования были растения яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Приокская. Семена проращивали в чашках Петри на фильтровальной бумаге с растворами сульфатов меди, кадмия и их сочетаний. Затем растения выращивали в условиях водной культуры на питательной смеси Хогланда в камере искусственного климата. В опытных вариантах в питательный раствор добавляли сульфат кадмия в концентрациях 10, 25, 50 и 100 мкМ/л или сульфат меди в концентрациях 50, 100, 250 и 500 мкМ/л. Совместное действие солей металлов изучали при соотношениях 1:1 (50 и 100 мкМ), 1:2 (50 мкМ $CdSO_4$ и 100 мкМ $CuSO_4$), 1:5 (100 мкМ $CdSO_4$ и 500 мкМ $CuSO_4$) и 1:10 (10 и 100; 25 и 250 мкМ $CdSO_4$ и $CuSO_4$, соответственно). Контролем служили растения, выращенные без солей меди и кадмия в среде. Гумат использовали в концентрациях 0,01% и 0,005% для проращивания семян и для выращивания растений соответственно. Концентрации выбраны по результатам ранее проведенных экспериментов. Степень металлоустойчивости определяли по соотношению массы надземных органов растений на опытном и контрольном вариантах. Коэффициент протекторного действия гумата расчитывали как соотношение массы (или длины) органов растений, выращенных при использовании гуминового препарата и без гумата. За показатель взаимодействия ионов принимали отношение массы (или длины корней и побегов) растений, выращенных при действии смеси солей металлов, к массе (или длине корней и побегов) растений, выращенных при раздельном использовании металлов. Значение показателя меньше 1 свидетельствует об усилении токсичности смеси по сравнению с действием отдельного иона, больше 1 – о снижении токсичности смеси.

При изучении влияния кадмия и меди на морфологические показатели проростков пшеницы установлено более сильное токсическое влияние кадмия на рост побегов, степень металлоустойчивости которых при действии кадмия ниже, чем меди на 14 и 19% при 50 и при 100 мкМ/л соответственно. Существенных различий между действием металлов на рост корней проростков не обнаружено, но отмечена тенденция усиления токсичности меди по сравнению с кадмием при высоких концентрациях. При оценке взаимодействия кадмия и меди антагонизм ионов (статистически доказанное снижение токсичности смеси для обоих металлов) наблюдался только для корней проростков при соотношении 50:50 мкМ. Гумат достоверно увеличил длину корней проростков пшеницы на 18-54%. Коэффициент протекторного действия был выше при действии меди – 1,42 и 1,54, чем кадмия – 1,18 и 1,24 (при 50 и 100 мкМ/л соответственно).

В процессе развития растений усилилась токсичность как отдельных металлов, так и их совместного действия при всех изученных соотношениях. В фазу кущения токсичность кадмия, определяемая по снижению сухой массы растений, превысила токсичность меди в 2 раза при 50 мкМ и в 4 раза при 100 мкМ. Синергизм ионов металлов - статистически достоверное усиление токсичности смеси металлов по сравнению с их раздельным действием - наблюдался при соотношениях кадмия и меди 50:100, 10:100 и 25:250 мкМ. Гумат снизил токсичность кадмия при 10 и 25 мкМ, меди - при 50 и 100 мкМ. Протекторное действие гумата при совместном действии солей металлов было слабее, чем при раздельном.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлена более высокая токсичность кадмия, чем меди на рост растений пшеницы при концентрациях солей металлов 50 и 100 мкМ/л. При изученных концентрациях и соотношениях кадмия и меди в фазу кущения обнаружено усиление их токсичности при совместном действии. Фитопротекторная роль гумата ограничивалась высокими концентрациями металлов и была выше при раздельном, чем при комплексном воздействии, что обусловлено усилением токсичности смеси кадмия и меди.

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ МИНЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ РЕУТИЛИЗАЦИИ АЗОТА У РАЗЛИЧНЫХ СОРТОВ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ

Effect of mineral nutrition conditions on nitrogen remobilization efficiency in different winter wheat varieties

Киризий Д.А.

Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины, Киев, Украина
kiriziy@gmail.com

Проблема эффективности использования азота растениями пшеницы имеет много аспектов, среди которых одно из ведущих мест занимает вопрос полноты реутилизации этого элемента из вегетативных органов в зерно при его созревании. Процесс реутилизации является важной физиологической составляющей формирования белковости зерна, а следовательно – его пищевой ценности и коммерческой стоимости. И хотя вопросы реутилизации изучаются уже давно, появление новых высокоинтенсивных сортов пшеницы, требующих для реализации своего генетического потенциала продуктивности высоких уровней минерального питания, ставит перед исследователями новые задачи. Целью нашей работы было изучить особенности реутилизации азота из вегетативных органов растений озимой пшеницы в процессе налива зерна у новых высокоинтенсивных сортов по сравнению с сортом более ранней селекции при выращивании в различных условиях минерального питания.

В опыт были вовлечены три сорта пшеницы – Фаворитка, Смуглянка (новые высокоинтенсивные сорта селекции Института физиологии растений и генетики НАН Украины) и Мироновская 808 (менее продуктивный высокорослый сорт селекции 1960-х гг.). После перезимовки в естественных условиях растения пересадили весной в фазе кущения в вегетационные сосуды на 10 кг почвы (по 15 шт. в сосуд). Почва – серая лесная оподзоленная в смеси 3:1 с речным песком. Растения выращивали на двух фонах минерального питания – высоком и низком. В первом случае в сосуды вносили $N_{160}P_{160}K_{160}$ мг/кг субстрата, во втором – $N_{32}P_{32}K_{32}$. В период цветения и полной спелости отбирали пробы (по 15 главных побегов на вариант) для определения сухой массы отдельных органов и содержания в ней общего азота. Исходя из полученных данных рассчитывали валовые количества азота по органам (в колосе при полной спелости отдельно для зерна и колосковых чешуек) и коэффициенты его реутилизации ($K_р$) по общепринятым методикам.

Показано, что $K_р$, рассчитанный для всего побега, у новых сортов на высоком фоне минерального питания больше (0,70), чем у старого сорта (0,63). Снижение уровня питания привело к уменьшению $K_р$ у всех сортов приблизительно на четверть, однако преимущество высокоинтенсивных сортов над Мироновской 808 по этому показателю сохранилось (соответственно 0,53 и 0,46). Более высокое, чем у Мироновской 808, содержание азота в сухом веществе побега у новых сортов при низком уровне минерального питания указывает на лучшее использование азота из почвы. Об этом свидетельствует и валовый вынос азота, который на высоком фоне питания составил у Фаворитки и Смуглянки – 50, у Мироновской 808 – 40 мг/побег, а на низком соответственно – 26, 22 и 17 мг/побег. Расчет коэффициентов реутилизации азота для отдельных вегетативных органов выявил, что у листьев всех сортов на обоих уровнях питания $K_р$ был выше, чем для стебля и целого побега. Это связано преимущественно с высоким содержанием данного элемента в листьях в фазу цветения. Интересно, что разница между сортами по $K_р$ для листьев на высоком фоне питания была не такой значительной, как для целого побега (в пределах 0,74-0,78). Однако по этому показателю для стебля новые сорта значительно превышали Мироновскую 808 (0,70 и 0,74 против 0,59). Итак, преимущество новых сортов над старым по эффективности реутилизации азота из целого побега обусловлено лучшим использованием резервов стебля. Снижение уровня минерального питания привело к уменьшению $K_р$ как для листьев, так и для стебля, однако у разных сортов по-разному. В этих условиях листья новых сортов превышали Мироновскую 808 (0,65 и 0,57 против 0,45), однако для стебля такого преимущества не наблюдалось. При недостатке питания вклад листьев в обеспечение зерна азотом у новых сортов был больше, чем у старого, а стебля – меньше. Зерновая продуктивность колоса главного побега на высоком фоне питания у Фаворитки составила 1,57 г, Смуглянки – 1,64 г и Мироновской 808 – 1,21 г, а на низком соответственно – 0,98, 0,85 и 0,75 г. Содержание азота в зерне на высоком фоне составило соответственно – 2,52, 2,46 и 2,4% абсолютно сухого вещества, а на низком – 1,88, 1,75 и 1,58%. Эти данные свидетельствуют, что хотя по белковости на высоком фоне питания различия между сортами были невелики, сбор белка с колоса у новых высокопродуктивных сортов был существенно больше как в оптимальных условиях минерального питания, так и при его недостатке. Таким образом, по результатам исследований сортовых особенностей реутилизации азота в процессе налива зерна у растений, выращенных при разных уровнях минерального питания, можно сделать вывод, что у новых высокоинтенсивных сортов озимой пшеницы Фаворитка и Смуглянка эффективность реутилизации азота в процессе налива зерна выше, чем у старого сорта Мироновская 808. При пониженном уровне минерального питания коэффициент реутилизации меньше, однако новые сорта сохраняют преимущество над старым по этому показателю. На высоком фоне минерального питания растения сортов Фаворитка и Смуглянка лучше использовали резервный азот стебля, чем Мироновская 808.

СОВМЕСТНОЕ ДЕЙСТВИЕ РЕГУЛЯТОРА РОСТА МЕЛАФЕНА И МИКРОЭЛЕМЕНТОВ НА ЭЛЕМЕНТЫ ПРОДУКЦИОННОГО ПРОЦЕССА *SOLANUM TUBEROSUM* L.

The combined effect of growth regulator melaphen and microelements to the elements of the production process of *Solanum tuberosum* L.

Кириллова И.Г.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образовательного учреждения «Орловский государственный университет», Орел, Россия
kaf_botany@univ-orel.ru

В данной работе исследовано совместное действие регулятора роста нового поколения – мелафена и микроэлементов (марганца и селена) – на элементы продукционного процесса растения картофеля. Мелафен является гетероциклическим и фосфорорганическим соединением, а именно, меламиновой солью бис(оксиметил)фосфинофой кислоты. В настоящей работе опыты проводили с растениями картофеля сорта Удача, которые выращивали в условиях вегетационного домика в почвенной культуре. Обработку мелафеном и микроэлементами проводили путем замачивания посадочных клубней в водных растворах следующих концентраций: мелафена - 10^{-8} М, $KMnO_4$ 10^{-4} М, Na_2SeO_3 10^{-6} М в течение 8 ч. В сосудах поддерживали влажность 60% от полной влагоемкости почвы. Определяли следующие показатели: интенсивность транспирации, водоудерживающую способность листа весовым методом, фотохимическую активность хлоропластов по скорости восстановления феррицианида калия, активность пероксидазы и полифенолоксидазы - по методу Бояркина, активность каталазы по количеству выделившегося кислорода, концентрацию сахарозы - резорциновым методом, количество продуктов ПОЛ - спектрофотометрическим методом. Как показали исследования, интенсивность транспирации листьев картофеля на первых этапах онтогенеза возросла на 28% в варианте с обработкой мелафеном, на 17% - в варианте «мелафен+селен» и на 5% - в варианте «мелафен+марганец». Во вторую половину вегетации данный показатель снизился во всех вариантах опыта по сравнению с контролем. Что касается водоудерживающей способности листа, то она оказалась выше в варианте с индивидуальной обработкой регулятором роста мелафеном. Совместная обработка регулятором роста мелафеном и микроэлементами, напротив, понизила водоудерживающую способность листа. Хлоропласты, выделенные из листьев растений, обработанных мелафеном и микроэлементами (селеном и марганцем), отличались повышенной скоростью фотовосстановления феррицианида калия по сравнению с контрольным вариантом. Больший эффект на величину данного показателя оказало совместное действие мелафена и микроэлемента селена. Определение концентрации сахарозы показало увеличение ее концентрации в листе при индивидуальной обработке регулятором роста мелафеном и совместно с селеном (увеличение составило 32%). В этих вариантах опыта отмечено повышение сырой массы надземных органов картофеля. Совместная обработка мелафеном и микроэлементами повлияла и на абсолютную высоту доминирующего побега. Более эффективным оказалось также совместное применение мелафена и микроэлемента селена (высота побега возросла на 20%) по сравнению с контролем. Анализ продуктивности картофеля показал увеличение общей массы клубней в кусте в вариантах опыта с индивидуальным применением регулятора роста мелафена и при совместном его действии с микроэлементом селеном. В данных вариантах продуктивность картофеля повысилась на 22-26% соответственно (как за счет фракции крупных, так и мелких клубней). Определение активности окислительных ферментов показало, что активность пероксидазы и каталазы в клубнях (во время снятия опытов) повышается в вариантах: «мелафен» и «мелафен +марганец». По-видимому, это связано с активизацией дыхания в клетках и, как следствие, накоплением субстрата для данных ферментов – пероксида водорода. В варианте «мелафен + селен» активность данных ферментов, напротив, снизилась. Что касается активности полифенолоксидазы, то она понизилась во всех вариантах опыта по сравнению с контролем (в большей степени в варианте «мелафен+селен»). Показано также, что совместное применение мелафена и микроэлементов уменьшило содержание продуктов ПОЛ в клубнях растения картофеля. Более эффективным оказалось совместное действие регулятора роста мелафена и микроэлемента селена в отношении изученных показателей.

РОЛЬ ГЕНА *ABERRANT LATERAL ROOT FORMATION 4* (*ALF4*) В ПРОЦЕССЕ ИНИЦИАЦИИ БОКОВОГО КОРНЯ У ТЫКВЕННЫХ

Role of the *ABERRANT LATERAL ROOT FORMATION 4* (*ALF4*) gene in Cucurbits lateral root initiation

Кирюшкин А.С., Ильина Е.Л, Демченко К.Н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия; AKiryushkin@binran.ru

Инициация бокового корня представляет собой сложный комплекс гормональных и молекулярно-генетических взаимодействий, поэтому выяснение механизмов, лежащих в основе данного процесса, является актуальной проблемой физиологии и биологии развития растений. В качестве объекта исследования был выбран кабачок (*Cucurbita pepo* L.), так как боковые корни этого растения закладываются в пределах апикальной меристемы родительского корня, однако физиологические и молекулярно-генетические механизмы, отвечающие за это событие, до сих пор остаются малоизученными.

Согласно литературным данным, обнаруженный у *Arabidopsis thaliana* ген *ABERRANT LATERAL ROOT FORMATION 4* (*ALF4*) кодирует уникальный для растений белок, предположительно ядерной локализации, не имеющий сходства с какими-либо ранее известными белками. Предполагается, что ALF4 действует независимо от ауксина, но конкретные механизмы его действия остаются неизвестными. Мутанты *alf4* лишены боковых корней, что позволяет говорить о непосредственном участии этого гена в процессе закладки боковых корней (DiDonato et al., *Plant Journal*, 2004). Также было показано, что процесс каллусообразования сходен с процессом образования боковых корней: первые деления клеток происходят в перицикле. У мутантов *alf4* процесс каллусообразования нарушен (Sugimoto et al., *Developmental Cell*, 2010). Вероятно, *ALF4* необходим для обеспечения пластичности митотической компетенции клеток перицикла.

С использованием системы клонирования GATEWAY (Life Technologies, США) был получен вектор pKGW243GGRR-pCpALF4, содержащий слитый репортерный ген зеленого флуоресцентного белка (GFP) и β-глюкуронидазы (GUS) под контролем промотора гена *ALF4* – конструкция *pCpALF4::gfp-gusA.* По разработанной коллективом ранее методике была произведена трансформация проростков кабачка (Ilina et al., *Annals of Botany*, 2012), получены композитные растения с трансгенными корнями, несущими конструкцию *pCpALF4::gfp-gusA.* Были получены данные о локализации активности промотора гена *ALF4* у представителей сем. Тыквенные. При длине промотора в 1298 п.о. активность GUS визуализировалась в зоне центрального цилиндра кончика корня: инициальных клетках и рядах клеток стелярной паренхимы, проводящих тканей и перицикла. Область экспрессии гена *ALF4* связана с меристемой корня и не распространяется в зону растяжения. Кроме того, экспрессия гена *ALF4* не выявляется в развивающихся примордиях бокового корня, как это наблюдалось ранее у *Arabidopsis* (DiDonato et al., *Plant Journal*, 2004). Полученные данные позволяют предположить особую роль данного гена в регуляции тканевой архитектуры меристемы корня и связь его функции с регуляцией пролиферации клеток.

Для изучения непосредственной роли гена *ALF4* в процессе инициации боковых корней была создана векторная конструкция для манипуляции уровнем его экспрессии. Трансформация растений кабачка штаммом *Agrobacterium rhizogenes* R1000, несущим новый генетический конструкт - pK7GWIWG2(II)-CpALF4, была направлена на подавление синтеза белка ALF4 на посттранскрипционном этапе (RNAi). Уровень экспрессии *ALF4* у отдельных трансформантов анализировался с применением количественного метода ОТ-ПЦР в реальном времени.

В докладе обсуждается роль гена *ALF4* в регуляции процесса инициации бокового корня.

Экспериментальные исследования поддержаны грантом РФФИ 14-04-01413-а.

ФУНКЦИОНАЛЬНО-СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА СОРТОВ ЯБЛОНИ РАЗЛИЧНОГО ЭКОЛОГО-ГЕОГРАФИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ В УСЛОВИЯХ ВЫСОКОТЕМПЕРАТУРНОГО СТРЕССА

Functional and structural changes in the photosynthetic apparatus of apple varieties of different Ecological and geographical origin under high temperature stress

Киселева Г.К., Ненько Н.И., Ульяновская Е.В., Караваева А.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства, Краснодар, Россия
galina-kiseleva-1960@mail.ru

Рассмотрены вопросы функционально-структурных изменений фотосинтетического аппарата сортов яблони различного эколого-географического происхождения и разной плоидности в условиях высокотемпературного стресса. Сделан комплексный подход на основе анатомо-морфологических и физиолого-биохимических исследований листового аппарата, получены сравнительные данные листового аппарата яблони, характеризующие физиологическое состояние растений в летний вегетационный период 2013-2014 гг. Использованы современные высокоточные физиолого-биохимические методы исследования водного обмена (общая оводненность, содержание свободной и связанной воды), содержания пролина, сахарозы, катионов кальция, АБК с применением высокоэффективного аналитического оборудования, а также методы световой микроскопии. Цель – изучение влияния высокотемпературного стресса и сопутствующих ему факторов среды на функциональное состояние фотосинтетического аппарата яблони. Объектами исследований служили сорта яблони различного происхождения: диплоидные: Айдаред, Эрли Мак, Дейтон (США), Лигол (Польша), Персиковое, Прикубанское, Рассвет, Фортуна (Россия, СКЗНИИСиВ); триплоидные Союз, Родничок (Россия, СКЗНИИСиВ).

Высокие температуры летнего периода ингибируют фотосинтез и рост растений. Изучение динамики оводненности листового аппарата показало большую его оводненность у сортов отечественной селекции, особенно у триплоидов, что характеризует более высокую интенсивность обменных процессов и адаптацию растений яблони к высоким температурам. Установлено, что в 2013-2014 гг. оводненность листьев изучаемых сортов коррелирует с количеством выпавших осадков (К коррел = 0,9-1,0) и среднемесячной температурой воздуха (К коррел. =0,83-0,90).

Показателем устойчивости растений к низкой влагообеспеченности в условиях летнего периода служит изменение соотношения связанной и свободной форм воды в листовом аппарате. Рост содержания связанной формы воды у триплоидных сортов свидетельствует об интенсивном протекании адаптационных процессов, обусловленных повышенными температурами летнего периода. В условиях лучшей влагообеспеченности 2013 г. этот показатель наиболее стабилен у триплоидов Союз (К= 2,6-4,3) и Родничок (К= 3,0-3,8). При наступлении засухи в августе 2014 г. этот показатель у большинства сортов снижается в сравнении с июлем, причем меньше у триплоидов. Увеличение содержания свободной формы воды в августе у большинства изучаемых сортов позволяет также предположить более активную транспирацию, что может быть связано с состоянием устьичной апертуры (Ккоррел.= 0,49).

Накопление АБК в условиях низкой влагообеспеченности способствует уменьшению устьичной апертуры. При этом у триплоидов Союз, Родничок изменение содержания катионов Ca^{2+} коррелирует с изменением содержания АБК в листьях в условиях летнего периода 2014 г.

Анатомо-морфологические исследования показали, что у триплоидных сортов яблони Союз, Родничок местной селекции ксероморфные признаки, связанные с засухоустойчивостью, проявились в большей степени в отличие от изучаемых сортов зарубежной селекции. Наибольшее преобладание слоя палисадной паренхимы над губчатой отмечено у сортов Союз и Родничок (индекс палисадности = 1,22 - 1,47).

На основе анатомо-морфологических и физиолого-биохимических показателей выявлено, что фотосинтетический аппарат сортов яблони отечественной селекции, особенно триплоидов обладает большим резервом потенциальных возможностей адаптироваться к высокотемпературному стрессу в сравнении с интродуцированными сортами зарубежной селекции. У триплоидных сортов яблони отечественной селекции биохимическая адаптация достигается за счет синтеза повышенного количества протекторных соединений - пролина, сахарозы, абсцизовой кислоты. Установлено, что фотосинтетический аппарат сортов яблони местной селекции, причем триплоидных сортов в большей степени, чем диплоидных, в условиях высокотемпературного стресса обладает повышенной адаптационной устойчивостью за счет сохранения высокой оводненности в период засухи, повышенного количества связанной формы воды, ксероморфных признаков листовой пластинки.

Работа поддержана грантом №13-04-96581 р_юг_а Российского фонда фундаментальных исследований и администрацией Краснодарского края.

ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННЫХ ДИФЕНОЛОВ НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ВОДНЫХ МАКРОФИТОВ

Exogenous diphenols effect on morphological parameters of aquatic macrophytes

Кислицина М.Н., Борисова Г.Г.

Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия
mariyakislitsina@yandex.ru

Вблизи промышленных стоков нефтеперерабатывающих, лесохимических, аминокрасочных предприятий содержание дифенолов может многократно превышать их предельно допустимые концентрации. В результате происходит нарушение естественных гидроценозов, изменяется их видовой состав и структура. Воздействие дифенолов сточных вод на водные растения исследовано очень слабо. Между тем водные макрофиты как первичные продуценты органического вещества определяют благополучие гидроценоза. В связи с этим цель данной работы состояла в выявлении эффектов длительного воздействия экзогенных дифенолов на морфологические характеристики листьев водных растений.

Объектами исследования были водные макрофиты *Batrachium trichophyllum* (Chaix) Bosch. и *Potamogeton perfoliatus* L. Для достижения поставленной цели была проведена визуальная оценка состояния листьев растений при выращивании в среде с дифенолами – гидрохиноном и резорцином. В эксперименте было использовано по 10 побегов *B. trichophyllum* и *P. perfoliatus*, каждый из которых имел одинаковую степень облиственности. Растения инкубировали в модельных системах на водопроводной воде в течение 30 сут с гидрохиноном и резорцином при концентрациях 1 и 10 мг/л. Контролем служили растения, инкубированные в водопроводной воде без добавления дифенолов. В качестве оценочных параметров использовали степень депигментации листьев и изменение их количества на побеге. Измерения проводили каждые 24 ч.

В результате исследований было показано, что у растений *B. trichophyllum* и *P. perfoliatus* при концентрации гидрохинона 1 и 10 мг/л происходило подавление роста листьев и снижение их количества из-за начавшихся процессов деградации. Так, количество листьев *B. trichophyllum* снизилось в 2 раза на 8-е сут инкубирования и на 18-е сут у *P. perfoliatus* при концентрации гидрохинона 1 мг/л. Повреждение листьев выражалось в потемнении листовых сегментов у *B. trichophyllum* и появлении желтых пятен на листьях у *P. perfoliatus.* Потемнение листовых сегментов *B. trichophyllum* может свидетельствовать о глубоком повреждении тканей под воздействием гидрохинона, тогда как частичный хлороз листьев *P. perfoliatus,* вероятно, говорит о разрушении зеленых пигментов. Результат депигментации в виде желтых пятен, вероятно, свидетельствует об устойчивости каротиноидов к действию гидрохинона в данной концентрации. Отмирание всех листьев при концентрации гидрохинона 10 мг/л происходило на 6-е сут у *B. trichophyllum* и на 7-е сут у *P. perfoliatus.* Следует отметить, что при концентрации гидрохинона 10 мг/л депигментации листьев не наблюдалось. Листья приобретали сероватый оттенок, ослизнялись и отмирали как у *B. trichophyllum,* так и у *P. perfoliatus*. Это говорит о высокой токсичности данной концентрации гидрохинона.

При культивировании растений в среде с резорцином также был обнаружен токсический эффект, проявляющийся в подавлении роста листьев и их депигментации. Депигментация листьев выражалась в появлении не желтых, как в случае с гидрохиноном, а белых пятен на листьях *P. perfoliatus.* Возможно, это связано с тем, что резорцин вызывал деградацию не только хлорофиллов, но и каротиноидов в листьях растений. Степень депигментации листьев *P. perfoliatus* достигла 50% на 14-е сут при инкубировании с резорцином в концентрации 1 мг/л и на 18-е сут – в концентрации 10 мг/л. В случае с *B. trichophyllum* потемнение более чем половины листовых сегментов происходило на 7-е сут при концентрации резорцина 1 мг/л и на 5-е сут при концентрации резорцина 10 мг/л. Количество листьев *P. perfoliatus* при инкубации с резорцином начало снижаться с 20 сут экспозиции, а у *B. trichophyllum* – с 8 суток.

Полученные данные позволяют сделать вывод, что гидрохинон токсичнее резорцина для *B. trichophyllum* и *P. perfoliatus*. Токсическое действие дифенолов проявлялось по-разному: высокие концентрации приводили к полному разрушению зрелых и подавлению роста новых листьев водных растений; при более низких концентрациях наблюдалось повреждение фотосинтетического аппарата. Результаты визуальной оценки показали, что, по-видимому, гидрохинон приводил к постепенному разрушению хлорофилла, воздействие резорцина затрагивало хлорофилл и каротиноиды. Изученные виды растений обладали разной степенью устойчивости к действию резорцина и гидрохинона: у *P. perfoliatus* она выражена сильнее, чем у *B. trichophyllum*.

ВЛИЯНИЕ СВЕТА ВЫСОКОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ НА ТЕПЛОУСТОЙЧИВОСТЬ ФОТОСИНТЕЗА И ВОССТАНОВЛЕНИЯ ТРИФЕНИЛТЕТРАЗОЛИЯ ХЛОРИДА В ЛИСТЬЯХ РАСТЕНИЙ

Effect of high irradiance on the heat stability of photosynthesis and reduction of triphenyltetrazolium chloride in the plant leaves

Кислюк И.М., Каменцева И.Е.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия; imkis@ mail.ru

Исследование совместного действия света высокой интенсивности и высокой температуры на листья пшеницы и огурца показало, что свет увеличивает тепловое подавление фотосинтеза и реакции восстановления 2,3,5-трифенилтетразолия хлорида (ТТХ). Ингибирующее действие 10-60 мин прогревов при 41-45°С на поглощение CO_2 увеличивается под влиянием освещенности 300-400 Вт/м^2 ФАР по сравнению с прогревами в темноте. Такая же освещенность увеличивает подавление восстановления ТТХ во время прогревов при 48-54°С. 60-мин экспозиция листьев при 350-450 Вт/м^2 ФАР и 25°С, напротив, повышает устойчивость фотосинтетического аппарата к последующим прогревам на свету и в темноте. Устойчивость видимого фотосинтеза и фотохимической активности ФС2 к прогревам на свету у предварительно освещавшихся листьев приближается к устойчивости контрольных листьев к прогревам в темноте. Эти данные показывают, что предварительное освещение листьев сильным светом уменьшает (или устраняет) фотоингибирование фотосинтеза, индуцированное нагревом. Устойчивость к фотоповреждению реакции восстановления ТТХ (осуществляемой в основном митохондриальными дегидрогеназами) также увеличивается в результате предварительного освещения листьев. Однако этот эффект наблюдается только при повышении температуры до 35°С во время экспозиции листьев при 300-400 Вт/м^2.

Полученные данные показывают, что избыточное освещение оказывает повреждающее (во время нагрева) или защитное (предшествующее нагреву) действие не только на хлоропласты, но и на другие компоненты клетки. Окислительному повреждению способствуют фотосенсибилизаторы, к которым наряду с хлорофиллом относятся порфирины и флавины – кофакторы фотосинтетических и дыхательных ферментов. Под действием света они генерируют АФК, в том числе особенно опасный синглетный кислород. Фоторецепторы , локализованные в различных компартментах, участвуют в повышении устойчивости к фотоповреждению как чувствительных (фотосинтез), так и самых термостабильных (восстановление ТТХ) клеточных функций.

РЕОРГАНИЗАЦИЯ ТУБУЛИНОВОГО ЦИТОСКЕЛЕТА В ПРОЦЕССЕ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ КЛЕТОК СИМБИОТИЧЕСКОГО КЛУБЕНЬКА *MEDICAGO TRUNCATULA* GAERTN.

Reorganization of tubulin cytoskeleton during cell differentiation in *Medicago truncatula* Gaertn. symbiotic nodule

Китаева А.Б.[1], Демченко К.Н.[1,2], Т. Тиммерс[3], Цыганов В.Е.[1]

[1] *Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии Российской академии наук, Пушкин, Санкт-Петербург, Россия; filmdocc@yandex.ru*

[2] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ботанический институт им. В. Л. Комарова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия*

[3] *Лаборатория растительно-микробных взаимодействий (CNRS UMR2594, INRA UMR441), Кастане-Толозан, F-31326 Франция*

Бобовые характеризуются уникальной способностью вступать в симбиотические отношения с клубеньковыми бактериями – ризобиями. В результате формируется новый орган, симбиотический клубенек, в котором ризобии фиксируют атмосферный азот. У гороха и других бобовых растений, формирующих клубеньки с меристемой, активной в течение длительного времени, развитие клубенька начинается с реактивации клеточных делений в перицикле и внутренних слоях коры корня. Развитие клубенька сопровождается активной дифференцировкой клеток, в результате чего в зрелом клубеньке наблюдаются как инфицированные, так и неинфицированные клетки, а также выделяются различные гистологические зоны: меристема, зона инфекции и зона азотфиксации. Очевидно, что в процессах дифференцировки симбиотического клубенька активную роль играет реорганизация элементов цитоскелета. В ходе данного исследования был проведен анализ изменений в организации микротрубочек в процессе дифференциации клеток клубенька. Исследование проводилось с использованием люцерны слабоусеченной (*Medicago truncatula* Gaertn.) Были использованы линия дикого типа A17 и полученные на ее основе мутантные линии TR3 (*ipd3*), характеризующаяся отсутствием выхода бактерий в цитоплазму растительной клетки и *efd-1*, характеризующаяся аномально крупными инфекционными каплями. Ген *IPD3* кодирует ключевой транскрипционный фактор, активирующий процесс органогенеза клубенька, а ген *EFD*, кодирует транскрипционный фактор, регулирующий работу негативного регулятора цитокининового ответа в клубеньке. Был проведен иммуноцитохимический анализ с использованием методов конфокальной лазерной сканирующей микроскопии.

В растительной клетке выделяют кортикальные и эндоплазматические микротрубочки. В клетках меристемы в клубеньках дикого типа и мутантных линий кортикальные микротрубочки были ориентированы случайным образом, перекрещивались между собой, формируя плотную сеть. Перинуклеарные микротрубочки окружали ядро, связывая его с периферией клетки, были видны многочисленные митотические микротрубочки. Покидая меристему, клетки увеличиваются в размерах, они пронизаны инфекционными нитями, на концах которых формируются инфекционные капли, из которых бактерии высвобождаются в цитоплазму растительной клетки. Некоторые клетки остаются неинфицированными. Так формируется зона инфекции. В данной зоне кортикальные микротрубочки сохраняют ориентацию, характерную для клеток меристемы. Тем не менее, по мере роста клетки в неинфицированных клетках кортикальные микротрубочки меняют ориентацию с неупорядоченной на параллельную, что особенно проявляется в зоне азотфиксации. Более того, даже если в клетках наблюдаются инфекционные структуры, но не происходит выход ризобий, кортикальные микротрубочки все равно меняют ориентацию на параллельную. В клетках мутантной линии TR3 выход бактерий из инфекционных нитей не происходит, и кортикальные микротрубочки организуются параллельно и перпендикулярно продольной оси клетки. Эндоплазматические микротрубочки окружают инфекционные капли и проходят вдоль инфекционных нитей в клетках линии дикого типа A17 и мутантных линий TR3 и *efd-1.* В инфицированных клетках зоны азотофиксации эндоплазматические микротрубочки располагаются между бактероидов, определяя их радиальное расположение в клетке. Иногда в зоне азотфиксации в неинфицированных клетках содержащих инфекционные нити происходит вторичный выход бактерий, в таком случае кортикальные микротрубочки меняют организацию с параллельной на неупорядоченную.

Таким образом, показано, что микротрубочки участвуют в росте инфекционной нити, формировании инфекционных капель и расположении бактероидов в клетке.

Работа поддержана грантом РФФИ (13-04-40344-Н).

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ БОБОВО-РИЗОБИАЛЬНОГО СИМБИОЗА

Molecular-genetic and cellular mechanisms of legume-*Rhizobium* symbiosis development

Китаева А.Б.[1], Иванова К.А.[1], Серова Т.А.[1], Стефанов С.Ю.[1], Кусакин П.Г.[1], Горшков А.П.[1], Чижевская Е.П.[1], Демченко К.Н.[1,2], Цыганова А.В.[1], Цыганов В.Е.[1]

[1] *Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии Российской академии наук, Пушкин, Санкт-Петербург, Россия; tsyganov@arriam.spb.ru*

[2]*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ботанический институт им. В. Л. Комарова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия*

Бобово-ризобиальный симбиоз возникает в ходе взаимодействия бобовых растений с ризобиями – бактериями, под общим названием которых скрываются 6 различных родов порядка *Rhizobiales*. В результате данного взаимодействия на корнях бобовых растений формируются симбиотические клубеньки. Симбиотический клубенек представляет собой уникальную экологическую нишу, в которой создаются микроаэрофилльные условия для фиксации ризобиями молекулярного азота. Процесс формирования симбиотического клубенька – сложный многоступенчатый процесс, в основе которого лежат скоординированная экспрессия генов микро- и макросимбионтов, обеспечивающая сигнальный диалог между симбиотическими партнерами. В идентификации этапов этого диалога за последние два десятилетия были достигнуты значительные успехи. В то же время многие аспекты развития симбиотических клубеньков все еще остаются недостаточно изученными.

В данном исследовании нами были изучены различные аспекты развития симбиотического клубенька: реорганизация тубулинового цитоскелета, продукция активных форм кислорода и функционирование системы антиоксидантной защиты, а также контроль клубенькообразования этиленом. В работе была использована серия симбиотических мутантов *Medicago truncatula* и *Pisum sativum*, блокированных на различных стадиях развития симбиотического клубенька.

Впервые с использованием иммуноцитохимического анализа и конфокальной лазерной сканирующей микроскопии была изучена трехмерная организация тубулинового цитоскелета для каждой гистологической зоны симбиотического клубенька двух видов бобовых растений: *M. truncatula* и *P. sativum* и проанализированы ее изменения в связи с процессами развития клубенька и дифференцировки клеток. Была показана ведущая роль эндоплазматических микротрубочек в росте инфекционной нити, формировании инфекционной капли и выходе ризобий в цитоплазму растительной клетки, а также ориентации в ней бактероидов. Выявлена специфическая ориентация кортикальных микротрубочек в клетках, остающихся неинфицированными, при этом показано, что инфицирование клетки ризобиями вызывает изменения в этой ориентации.

В данном исследовании с использованием методов флуоресцентной и электронной микроскопии было показано, что перекись водорода участвует в созревании стенки инфекционной нити (путем перекрестного связывания арабиногалактанпротеин экстензинов, повышая плотность матрикса инфекционной нити), выходе бактерий из инфекционных капель, а также деградации бактероидов при старении симбиотического клубенька гороха. С использованием иммуноцитохимического анализа и конфокальной лазерной сканирующей микроскопии, а также анализу экспрессии генов с помощью ПЦР в реальном времени показано, что в симбиотическом клубеньке активно функционирует антиоксидантная система, одним из основных компонентов которой является глутатион.

С использованием фармакологического подхода (с применением специфических ингибиторов биосинтеза и действия этилена, предшественника этилена), а также с использованием иммуноцитохимического анализа и конфокальной лазерной сканирующей микроскопии было показано, что негативный регулятор клубенькообразования – этилен регулирует развитие клубенька на стадии формирования меристемы зрелого клубенька, а также участвует в процессе старения симбиотического клубенька.

Работа поддержана грантами РФФИ (13-04-40344-Н; 14-04-00383) и Президента РФ (НШ-4603.2014.4).

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ И КОЛИЧЕСТВО ВНЕЛИСТОВЫХ ПИГМЕНТОВ В ПОБЕГАХ НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ДРЕВЕСНЫХ И КУСТАРНИКОВЫХ ФОРМ РАСТЕНИЙ ЮГА СИБИРИ

Functional activity and content of photosynthetic pigments in the stems of some trees and shrubs in the South of Siberia

Китаева Т.Ю.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Сибирский федеральный университет», Красноярск, Россия; t_kitayeva@mail.ru

Под внелистовыми пигментами понимают пигменты, которые находятся во всех частях побега, за исключением листьев. Доказана фотосинтетическая активность хлорофиллсодержащих тканей зеленых плодов, почек, и стебля. Среди этих органов только стебель сохраняется в течение всего года, что делает его подходящим объектом для изучения динамики фотохимических и физиологических процессов, происходящих при переходе растения от состояния вегетации к покою. С наступлением осени, когда растение впадает в состояние глубокого, а затем и в состояние вынужденного покоя, вследствие дефолиации доля внелистовых пигментов в общем балансе пигментов возрастает, в то время как их фотохимическая активность падает. С этой фазой жизненного цикла связан относительно малоизученный физиологами ряд вопросов: содержание пигментов в побеге в летний и зимний сезоны, зависимость их функциональной активности от места локализации пигментов в побеге или возраста, наличие видовой специфики. Данная работа посвящена изучению особенностей распределения хлорофиллов *a, b* и каротиноидов, а также динамике фотосинтетической активности в побегах некоторых представителей древесных и кустарниковых форм растений Юга Сибири.

В качестве объекта исследования были использованы двух-шести летние побеги *Acer negundo* L.*, Betula pendula* Roth*, Syringa josikaea* Jacq. Fil*, Populus nigra* L. Для них характерно наличие фотосинтетических пигментов во всех трех основных тканях стебля, которые можно легко идентифицировать визуально – коре, древесине, сердцевине. Сбор образцов проводили в летний (май-июль) и зимний (январь-февраль) периоды на территории лесного массива Академгородка в окрестностях Красноярска. Анализировали исключительно свежесобранные образцы. Небольшой фрагмент побега при помощи острого ножа разделяли на указанные ткани, измельчали и растирали в ступке с добавлением стекла и 96% раствора этилового спирта. Оптическую плотность раствора пигментов измеряли на спектрофотометре Specol 1300 (фирмы Analytik Jena, Германия), либо на флуориметре ФЛ3003, для растворов с высокой и низкой концентрацией пигментов соответственно. Количество хлорофиллов *a, b* и каротиноидов рассчитывали на единицу сырой массы. Функциональную активность регистрировали на PAM флуориметре IMAGE PAM (модули MINI и MAXI) фирмы Walz, Германия. На поперечных срезах побегов высотой 2-4 мм были измерены квантовый выход ФС2, а также максимальная и фоновая флуоресценции.

Полученные данные свидетельствуют о неоднородности распределения желтых и зеленых пигментов в радиальном направлении (по тканям побега) вне зависимости от сезона. Содержание хлорофилла *a* в коре колебалось от 14,2 до 423,1 мкг/г сыр. мас., хлорофилла *b* – от 8,9 до 199, 7 мкг/г сыр. мас. В большинстве изученных образцов наблюдали постепенное уменьшение количества пигментов по направлению от коры к сердцевине, реже - резкое увеличение количества пигментов в сердцевине. Все исследованные виды характеризовались наименьшим содержанием каротиноидов в области древесины. В побегах клена и березы по этому параметру наблюдали различия, не зависящие от времени наблюдения (сезона) – наибольшее количество желтых пигментов у березы регистрировали в коре, у тополя – в сердцевине. Потенциальная фотохимическая активность тканей побега характеризовалась величиной квантового выхода фотосистемы 2 (Y(II)) до 0,66 летом, а в зимний период (февраль) Y(II) стремился к нулю. У большинства видов (независимо от сезона) по направлению от сердцевины к коре уменьшалась интенсивность фоновой и максимальной флуоресценции, и увеличивался квантовый выход Y(II). На основании этого был сделан вывод о том, что фотосинтетическая активность по мере приближения к внешним слоям побега растет. При этом не было установлено прямой связи между количеством пигментов и их фотосинтетической активностью. Ткани побегов, взятых в холодное время года, содержали больше хлорофиллов, чем в теплое, но при этом проявляли минимальную фотосинтетическую активность. Существующую разницу в содержании пигментов нельзя объяснить особенностями выбранной методики (расчетом количества пигментов на сырую массу), которая предполагает несущественные различия в результатах в связи с тем, что зимой ткани побега сильнее обезвожены. Поэтому было высказано предположение о том, что такие большие различия возникли из-за изменения основной функции хлорофилла: если в период вегетации это осуществление фотосинтеза, то в период покоя это может быть запас питательных веществ.

КАДМИЙ В ХЛОРОПЛАСТАХ ЯЧМЕНЯ И КУКУРУЗЫ И ВЫЗЫВАЕМОЕ ИМ ПОДАВЛЕНИЕ НЕСКОЛЬКИХ ЭТАПОВ ФОТОСИНТЕЗА

Cadmium in the chloroplasts of barley and maize, and the inhibition of several photosynthesis stages caused by it

Клаус А.А.[1], Пшибытко Н.Л.[2], Лысенко Е.А.[1]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; klaus.alexander@rambler.ru*
[2] *Институт биофизики и клеточной инженерии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь; ibce@ibp.org.by*

Накоплению кадмия в хлоропластах посвящено сравнительно небольшое количество исследований. При этом при выделении хлоропластов лишь в единичных случаях был применен метод «золотого стандарта» - очистка в ступенчатом градиенте перкола. Полученные нашими предшественниками результаты не носили систематического характера – исследования проводились на различных объектах, применялись различные по длительности экспозиции. Наши данные заполняют разрыв в результатах этих работ и позволяют создать единую картину из имеющихся на сегодняшний день знаний. Отметим, что накопление кадмия в хлоропластах невелико – от десятых долей до нескольких процентов от общего количества этого металла в листе. Оно существенно отличается у разных объектов при одинаковой постановке эксперимента. По полученным данным, например, в хлоропластах кукурузы накапливалось кадмия 49 нг/мг хлорофиллов (в случае 80 мкМ кадмия в среде), а в хлоропластах ячменя - 171 нг/мг хлорофиллов. При этом у растений ячменя, но не кукурузы, мы наблюдали снижение быстрого компонента NPQ, зависящего от транс-тилакоидного градиента протонов. Большинство изученных параметров функционирования электрон-транспортной цепи не изменялись под действием кадмия в среде. Также мы не обнаружили никакого эффекта кадмия на уровень мРНК нескольких генов пластома, кодирующих фотосинтетические белки. По имеющимся в литературе данным уровень белков в хлоропластах большинства изученных видов также не изменяется под воздействием кадмия. По-видимому, ионы кадмия, проникающие в хлоропласт, практически не влияют на фотосинтез и экспрессию пластома. Проявление упомянутого выше эффекта кадмия на NPQ у растений ячменя хорошо коррелирует с внешней концентрацией кадмия, но не с его накоплением в хлоропластах. Это свидетельствует, скорее всего, о косвенном воздействии кадмия на образование транс-тилакоидного градиента протонов через изменение некоторых физиологических процессов организма.

УЛЬТРАСТРУКТУРА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА И СОДЕРЖАНИЕ ПИГМЕНТОВ ПЛАВАЮЩИХ И ПОДВОДНЫХ ЛИСТЬЕВ *NYMPHAEA ALBA* L.

Photosynthetic apparatus ultrastructure and pigments content of floating and submerged leaves of *Nymphaea alba* L.

Клименко Е.Н.

Институт ботаники им. Н.Г. Холодного Национальной академии наук Украины, Киев, Украина
li_grey@mail ru

Гетерофиллия - формирование на одном растении листьев разной формы, сопровождается изменениями их структурно-функциональной организации на всех уровнях начиная с направлений деления клеток, и заканчивая изменениями на субклеточном и молекулярном уровнях. Проявления гетерофиллии наиболее ярко прослеживаются у высших водных растений, часть органов которых находится в воде, а часть - над водой. Одно из таких растений кувшинка белая, *Nymphaea alba* L., было выбрано в качестве объекта для изучения ультраструктуры клеток мезофилла и содержания пигментов плавающих и подводных листьев. Отбирали зрелые плавающие и подводные листья с глубины 1м. Фиксацию, обезвоживание в серии спиртов и заливку образцов в смесь эпоксидных смол проводили по общепринятым методам. Срезы изучали в электронном микроскопе JEM 1230EX. Негативы сканировали и полученные цифровые изображения анализировали при помощи программного обеспечения UTHSCSA Image Tool 3.0. На снимках измеряли линейные размеры и площадь хлоропластов, количество тилакоидов в гране, определяли парциальные объемы фотосинтетических мембран. Пигменты (хлорофилл и каротиноиды) экстрагировали 80% ацетоном. Измерения проводили на спектрофотометре Specord M40. Содержание пигментов на единицу сухого веса (мг/г) и единицу площади (мг/см^2) рассчитывали по формулам Лихтенталлера и Бушмана. Все полученные данные обрабатывались статистически при помощи программного обеспечения Statistica 7.0.

Ультраструктура клеток мезофилла плавающих и подводных листьев типична для фотосинтетических клеток: центральную часть клетки занимает большая вакуоль, ядро округлой или овальной формы и другие органеллы располагаются в периферической цитоплазме. Хлоропласты контактируют с митохондриями и пероксисомами. В палисадной паренхиме плавающих листьев хлоропласты располагаются вдоль антиклинальных стенок клеток. Средняя длина и ширина пластид составляет 4,31±0,17 и 1,16±0,04 мкм соответственно. Парциальный объем фотосинтетических мембран 13,85±1,0%, стромы - 81,23±1,3%. Среднее количество тилакоидов в гране 2,08±0,05, максимальное количество - 5. Хлоропласты подводных листьев располагаются вдоль периклинальных стенок недифференцированных клеток мезофилла. Их длина и ширина составляют 5,52±0,2 и 1,12±0,05 мкм, соответственно. Парциальный объем фотосинтетических мембран значительно выше в сравнении с плавающими листьями - 55,89±2,0%, соответственно, объем стромы уменьшается до 42,28±2,0%. Среднее количество тилакоидов в гране 12,94±0,93. Отдельные граны могут насчитывать до 35-41 тилакоидов.

Содержание хлорофилла *a, b* и суммы хлорофиллов на единицу сухой массы выше в 2-3 раза у подводных листьев *N. alba* в сравнении с плавающими. Например, содержание суммарного хлорофилла *(a+b)* на единицу сухой массы у подводных листьев 8,08±0,92 мг/г, а у плавающих - 3,66±0,27 мг/г. В распределении пигментов на единицу площади листьев наблюдалась обратная тенденция - наибольшее количество пигментов наблюдается у плавающих листьев. Содержание суммарного хлорофилла *(a+b)* на единицу площади у подводных листьев 17,47±3,49 мг/см^2, у плавающих - 37,33±4,27 мг/см^2. Соотношение хлорофиллов *a/b* колебалось от 2,12±0,10 у подводных листьев до 3,30±0,21 - у плавающих. Различия в содержании пигментов в различных типах листьев обусловлены их анатомическим строением и ультраструктурой фотосинтетического аппарата: количеством слоев мезофила, размерами клеток, количеством и размерами хлоропластов.

Подводные листья *N. alba* похожи на листья теневыносливых растений по таким параметрам как, большое количество тилакоидов в гране, большой парциальный объем фотосинтетических мембран, содержание пигментов в единице сухой массы. В свою очередь, плавающие листья *N alba* схожи с листьями светолюбивых видов наземных растений. Таким образом, описанные отличия свидетельствуют об адаптации каждого типа листьев к условиям той окружающей среды, в которой они произрастают - водной или воздушной.

ПОЛИМОРФИЗМ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ *PINUS SYLVESTRIS* В УСЛОВИЯХ ЛЕСОСТЕПНОЙ ЗОНЫ ЦЕНТРАЛЬНО-ЧЕРНОЗЕМНОЙ ОБЛАСТИ РОССИИ

Polymorphism of physiological-biochemical parameters of the *Pinus sylvestris* L. in the forest-steppe in the the Central Black Earth Region of Russia

Клушевская Е.С., Кузнецова Н.Ф.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики, селекции и биотехнологии», Воронеж, Россия; ekogenlab@gmail.com

Наиболее частыми причинами снижения урожайности и гибели лесов в лесостепной зоне является засуха. Лесные древесные растения в зависимости от генотипа по-разному реагируют на гидротермический стресс. Целью исследований является изучение нормы реакции сосны обыкновенной в естественных и стрессовых условиях; анализ таких физиолого-биохимических параметров, как водный режим растений и концентрация аминокислоты пролин, в зависимости от генотипа модельных деревьев Ступинского тест-объекта (Воронежская область, Рамонский район относительно экологически чистая зона,45-50-летние культуры). В мае 2013г. с 10 контрастных по засухоустойчивости деревьев были отобраны образцы побегов с хвоей второго года жизни. Для воссоздания в лабораторных условиях искусственной засухи мы использовали 0,6 М раствор маннита в двух различных вариантах: 1) «засуха» + температура в течение 7-и дней при температуре 45°С; и 2) «засуха» в течение 10 дней при комнатной температуре. Исследования водного режима растений (дефицит влаги, общее количество влаги, количество коллоидно-связанной воды) проводили по общепринятой методике Х.Н. Починка в хвое нефиксированных образцов после отбора (контроль) и после двух видов воздействия. Содержание свободного пролина определяли в воздушно-сухих пробах методом Бейтса.

Установлено, что уровень влаги в исследованных образцах исходных деревьев колебался в пределах 11,6%, в интервале 50,7-62,3%, со средним значением 55,3%. В первом варианте опыта содержание воды снизилось в 1,9 раза, средний показатель составил 29,5%. Во втором варианте, соответственно - в 1,8 раз со средним значением 30,7% относительно исходного материала. Не смотря на сходные значения среднего показателя, амплитуда варьирования признака во втором случае была в 1,5 раза шире, чем при действии экстремальной нагрузки. При этом верхняя граница значений признака на 4,7% перекрывается с нижними значениями нормы реакции признака. Важной характеристикой устойчивости растения является его влагоудерживающая способность. Поэтому, исследования водного режима растений в нормальном состоянии и под стрессовой нагрузкой, позволяют судить не только о состоянии деревьев на данный момент, а так же о наличии у них адаптивных механизмов, и, в целом, об их устойчивости. Содержание коллоидно-связанной воды в исследованных образцах определялось в интервале 10,8-27,7% (в пределах 16,9%), со средним значением 19,1%. Выявлено, что в первом варианте опыта («засуха» + температура) количество коллоидно-связанной воды увеличилось в 1,5 раза, средний показатель признака составил 28,0%. При варианте «засуха» (II) содержание коллоидно-связанной воды повысилось втрое, со средним значением 56,6%. Амплитуда варьирования признака увеличилась в 1,3 раза при экстремальном стрессе, и в 3 раза (до 52,8%) при умеренном. При сопоставлении полученных данных становится очевидным, что количество коллоидно-связанной воды выше в ситуации умеренного стресса. При этом, общее содержание влаги из-за значительного повышения количества связанной воды, понижается в меньшей степени. Важной характеристикой, позволяющей судить о силе стрессового воздействия и реакции растительного организма на нее, является такой параметр как «дефицит влаги», поскольку все жизненно важные процессы, в той или иной степени зависят от его величины. Показано, что среднее значение данного параметра составляет в 8,7%, при размахе варьирования признака – 5,3-12,6%. При сильном стрессе величина дефицита влаги в хвое стала больше в 2,9 раза (24,7%), размах варьирования признака увеличился в 1,7 раз (18,0-30,5%). В умеренно стрессовых условиях его значение достигло 15,3%. Диапазон изменчивости деревьев стал шире в 2,2 раза относительно контроля (4,9-20,7%). Известно, что при стрессе значительно изменяется содержание аминокислоты пролин, которая является стрессовом метаболитом. Концентрация пролина в исследованных образцах колебалась в пределах 1,84–4,53 мкМ/г со средним значением 3,0 мкМ/г. При воздействии засухи и высокой температуры концентрация аминокислоты увеличилось в 1,4 раза, среднее значение повысилось до 4,2 мкМ/г в пределах 1,8-6,6 мкМ/г, а под действием только засухи в 3,8 раза, до 11,4 мкМ/г в интервале 3,8-26,9 мкМ/г. Амплитуда колебаний с 2,7 мкМ/г увеличилась в 1,8 раз до 4,7 мкМ/г в первом случае и в 8,6 раз до 23,1 мкМ/г во втором. Следует отметить, что содержание пролина, как показателя жизнеспособности клетки, сильно варьирует в зависимости от генотипа дерева и степени его засухоустойчивости. Достоверных различий между группами устойчивых и чувствительных растений выявить не удалось. Таким образом, индуцированный стресс расширил границы изменчивости всех проанализированных признаков, сдвинул адаптивную норму реакции, особенно в варианте длительного и умеренного стресса, что вероятно связано с адаптивными механизмами, направленными на поддержание гомеостаза внутренней среды сосны.

ПОЛЯРНЫЙ РОСТ ПЫЛЬЦЕВЫХ ТРУБОК *IN VITRO:* ГОРМОНАЛЬНАЯ МОДУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ СИСТЕМ МУЖСКОГО ГАМЕТОФИТА

Effects of exogenous plant hormones on petunia pollen tube polar growth *in vitro*

Ковалева Л.В.[1] , Воронков А.С.[1], Захарова Е.В.[2], Минкина Ю.В.[1], Тимофеева Г.В.[1], Андреев И.М.[1]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева РАН, Москва, Россия; kovaleva_l@mail.ru*

[2] *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия; zakharova_ekater@mail.ru*

В основе полярного роста пыльцевой трубки лежит направленный к апексу внутриклеточный транспорт везикул, несущих материал для построения апикальной плазматической мембраны (ПМ) и клеточной стенки в ходе экзо- и эндоцитоза и поддержание в ее цитоплазме внутриклеточных градиентов pH и pCa в результате особым образом организованных потоков физиологически важных ионов через ПМ. Движущей силой везикулярного транспорта в пыльцевой трубке является ее актиновый цитоскелет, активность которого контролируется ионами Ca^{2+} и ROP-ГТФазами, участвующими также в процессе слияния везикулярных мембран с плазмалеммой. Полученные нами данные (Kovaleva and Zakharova, 2003; Ковалева и др., 2005; 2009; 2015; Андреев и др., 2007; Воронков и др., 2010) свидетельствуют в пользу гипотезы о том, что в регуляцию полярного роста пыльцевых трубок способны включаться и фитогормоны (этилен, ауксин, АБК, гиббереллины и цитокинины). Результаты проведенных нами исследований, направленных на проверку справедливости этой гипотезы, показали, что внутриклеточный pH и мембранный потенциал на ПМ мужского гаметофита петунии заметно возрастают под действием стимулирующих его рост фитогормонов (ИУК, АБК и гиббереллина A_3), и что эти эффекты отражают собой повышенную под действием данных соединений активность H+-АТФазы на ПМ пыльцевой трубки. Кроме того, обнаружено, что гормон-индуцированная стимуляция ростового процесса включает в себя реорганизацию актинового цитоскелета пыльцевой трубки (ИУК и цитокинин) и изменение латерального распределения ПМ H+-АТФазы (ауксин и АБК) в ее ПМ. Предполагается, что все эти структурно-функциональные изменения в исследованных клеточных компонентах пыльцевой трубки, запускаемые фитогормонами, тесно связаны с регуляцией ее полярного роста. При этом имеются основания полагать, что трансдукция гормональных сигналов в прорастающем мужском гаметофите петунии инициируется ионами Ca2+, который, как полагают (Himschoot et al., 2015), является ключевым организатором клеточной полярности у растений и, согласно результатам данной работы, активным регулятором активности ряда внутриклеточных систем мужского гаметофита, модулируемых фитогормонами. Полученные нами данные говорят в пользу того, что наиболее сильные эффекты на эти системы обнаруживает ИУК. Этот факт хорошо согласуется с ее ключевой ролью в регуляции разнообразных физиологических процессов у растений и дает основание считать, что ИУК включается в регуляцию полярного роста пыльцевой трубки, взаимодействуя с другими гормонами.

Работа поддержана грантом РФФИ (13—04-00592).

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТЕКТОРНОГО ЭФФЕКТА БИОПЛЕНОК *NOSTOC COMMUNE* НА РАСТЕНИЯ ЯЧМЕНЯ, ПРОИЗРАСТАЮЩИЕ В УСЛОВИЯХ ЗАГРЯЗНЕНИЯ МЕТИЛФОСФОНОВОЙ КИСЛОТОЙ

Study of the protective effect of cyanobacteria *Nostoc commune* on barley plants grown under conditions of methylphosphonic acid pollution

Коваль Е.В.[1], Огородникова С.Ю.[1,2]

[1] *Вятский государственный гуманитарный университет, Киров, Россия*
[2] *Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, Сыктывкар, Россия*
svetao_05@mail.ru

Метилфосфоновая кислота (МФК) – универсальный маркер фосфорсодержащих отравляющих веществ и конечный продукт их гидролиза. Потенциальными источниками поступления являются предприятия, ведущие синтез данных соединений, а также объекты по уничтожению фосфорорганических веществ. Наличие стабильной углерод-фосфорной связи, делает это соединение устойчивым к тепловому воздействию, гидролизу и фотолизу. Даже в малых концентрациях, МФК оказывает влияние на растения и почвенную микрофлору. Ряд цианобактерий (ЦБ) проявляет устойчивость к метилфосфонатам. Выявлено, что биопленки ЦБ *Nostoc commune* устойчивы к действию МФК, поэтому данный вид ЦБ был выбран нами для исследования. Цель работы – изучить влияние обработки семян биопленками ЦБ *N. commune* на показатели жизнедеятельности растений ячменя, выращенных в присутствии МФК.

Семена ячменя с. Новичок, проращивали на дистиллированной воде в течение 2 сут в присутствии ЦБ и без них. Затем семена пересаживали в контейнеры с песком, увлажненным до 60% от полной влагоемкости растворами МФК (0,01 и 0,05 моль/л). В фазу 2-х листьев оценивали активность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в корнях и листьях ячменя, содержание пластидных пигментов, антоцианов и показатели роста. Интенсивность ПОЛ анализировали по цветной реакции тиобарбитуровой кислоты с малоновым диальдегидом (МДА), который образуется в процессе ПОЛ. Содержание пластидных пигментов определяли фотометрически в ацетоновой вытяжке. Содержание антоцианов – по методике Муравьевой (1987). Для измерения ростовых показателей отбирали по 20 растений каждого варианта, разделяли на органы и измеряли их длину.

Установлено, что обработка семян ЦБ приводила к снижению интенсивности ПОЛ в корнях ячменя. МФК (0,05 моль/л), напротив, вызывала активный рост уровня МДА в корнях. Цианобактериальная обработка семян снижала активность ПОЛ в корнях растений, выросших в присутствии МФК (0,05 моль/л). МФК вызывала активацию процессов ПОЛ в листьях ячменя. ЦБ обработка семян ЦБ снижала действие МФК (0,01 моль/л), но не приводила изменению активности ПОЛ в варианте с влиянием МФК более высокой концентрации (0,05 моль/л).

Обработка семян ячменя ЦБ приводила к накоплению каротиноидов, выполняющих протекторную функцию в пигментном комплексе растений. В опыте с действием МФК (0,05 моль/л) содержание желтых пигментов достоверно снижалось, что коррелирует с повышением активности ПОЛ. Инокуляция семян ЦБ также способствовала накоплению большего числа каротиноидов в листьях растений, выращенных в условиях загрязнения МФК (0,05 моль/л), в отличие от растений, семена которых не были обработаны ЦБ. Возможно, накопление каротиноидов в листьях связано с индукцией их синтеза в присутствии ЦБ и направлено на повышение устойчивости растений. Установлено, что обработка семян ЦБ *N. commune* стимулировала накопление хлорофиллов в листьях. В варианте с загрязнением субстрата МФК (0,01 моль/л) также отмечали накопление хлорофиллов. МФК в большей концентрации (0,05 моль/л), напротив, вызывала снижение содержания зеленых пигментов в листьях ячменя, причем сходные эффекты установлены в опытах, с предварительной обработкой семян ЦБ, так и без ЦБ обработки. Обработка семян ЦБ не оказывала влияния на накопление вакуолярных пигментов – антоцианов, являющихся низкомолекулярными антиоксидантами. МФК (0,05 моль/л) стимулировала накопление антоцианов в листьях ячменя, их содержание было в 2,7 раза выше, чем в контроле. Обработка семян ЦБ приводила к снижению накопления антоцианов в листьях растений, выросших в присутствии МФК (0,05 моль/л). В варианте с действием МФК меньшей концентрации (0,01 моль/л) ЦБ обработка семян, напротив вызывала повышение содержания антоцианов в листьях.

Обработка семян *N. commune* стимулировала рост ячменя. В опытах с МФК достоверных изменений роста побегов не выявлено. МФК в высокой концентрации (0,05 моль/л) вызывала значительное угнетение роста корней. ЦБ обработка не снижала токсического эффекта 0,05 моль/л МФК.

Таким образом, цианобактериальная обработка семян *N. commune* индуцировала процессы антиоксидантной защиты в клетках, стимулировала накопление хлорофиллов и рост ячменя. Выявлено фитопротекторное действие ЦБ *N. commune* на растения ячменя, которые выращивали в условиях загрязнения 0,01 моль/л МФК, которое проявилось в накоплении антоцианов и снижении интенсивности процессов ПОЛ в листьях. Значительное токсическое действие на растения ячменя оказывала 0,05 моль/л МФК, цианобактериальная обработка не снижала негативного эффекта поллютанта.

УСТОЙЧИВОСТЬ И НАКОПЛЕНИЕ НИКЕЛЯ И ЦИНКА ИСКЛЮЧАТЕЛЯМИ И ГИПЕРАККУМУЛЯТОРАМИ СЕМЕЙСТВА *BRASSICACEAE*

Zinc and nickel accumulation in excluders and hyperaccumulators of Brassicaceae family

Кожевникова А.Д., Эрлих Н.Т., Серегин И.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; urtica8127@yandex.ru

В связи с возрастающим загрязнением окружающей среды тяжелыми металлами (ТМ), одной из ключевых задач экологической физиологии растений является изучение механизмов, определяющих избирательное накопление ТМ у двух контрастных групп растений: исключателей, у которых ТМ накапливаются главным образом в корнях, и аккумуляторов, у которых они накапливаются преимущественно в побегах.

В работе проведен сравнительный анализ устойчивости и способности к накоплению никеля (Ni) и цинка (Zn) у четырех экотипов гипераккумулятора *Noccaea caerulescens* F.K. Mey (La Calamine (LC, Бельгия), Saint Félix de Palliéres (SF, Франция) с каламиновых почв, богатых Zn, Cd, Pb; Monte Prinzera (MP, Италия) с серпентиновых почв, богатых Ni, Co и Cr, а также Lellingen (LE, Люксембург) с неметаллоносных почв) и у исключателей *Thlaspi arvense* L., *Lepidium ruderale* L. и *Capsella bursa-pastoris* L. – рудеральных видов семейства *Brassiceceae*. Растения выращивали на ½ раствора Хогланда в климатической камере (23°C/18°C день/ночь, 14-ч. световой день, влажность 70 %) в течение 8 недель в присутствии $Zn(NO_3)_2$ [50 – 1000 мкМ (*N. caerulescens*); 40 – 80 мкМ (*T. arvense*); 10 – 80 мкМ (*L. ruderale* и *C. bursa-pastoris*)] или $Ni(NO_3)_2$ [25 – 400 мкМ (*N. caerulescens*); 10 – 30 мкМ (*T. arvense*); 5 – 30 мкМ (*L. ruderale* и *C. bursa-pastoris*)]. Токсическое действие Ni и Zn оценивали по изменению сухой массы корней и побегов. Содержание Ni и Zn в корнях и побегах определяли методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии, а их распределение – гистохимическими методами с использованием индикаторов диметилглиоксима (Ni), цинкона и Zinpyr-1 (Zn).

Снижение накопления биомассы корней у гипераккумулятора *N. caerulescens* начиналось при более низком содержании Ni и Zn по сравнению с побегами, в то время как у исключателей прослеживалась обратная закономерность. Способность к накоплению Ni экотипами *N. caerulescens* возрастала в следующем порядке: LC < SF < LE < MP, а для Zn – в ряду: LC < SF < LE. Так как исключатели накапливали Ni и Zn преимущественно в корнях, а *N. caerulescens* – в побегах, можно предположить, что большая чувствительность роста корня по сравнению с побегами у *N. caerulescens* определяется более эффективными механизмами детоксикации металлов в побегах. И наоборот, большая чувствительность роста побега по сравнению с ростом корня у исключателей определяется более эффективными механизмами детоксикации металлов в корнях. У всех изученных видов Zn был найден во всех тканях корня и накапливался в растущем участке корня, примордиях боковых корней и в корневых волосках. В клетках коры Zn выявлялся преимущественно в апопласте, а в перицикле, эндодерме, флоэме и ксилемной паренхиме – также в протопластах клеток. В побегах Zn выявлялся в проводящих пучках и эпидерме, особенно в протопластах водозапасающих клеток эпидермы у *N. caerulescens*. Содержание Zn в мезофилле было ниже, чем в других тканях листа. У всех экотипов *N. caerulescens* Ni накапливался в апексе корня и в водозапасающих клетках эпидермы листа, преимущественно в протопластах клеток. Наибольшее содержание Ni во всех тканях корня и побега обнаруживалось у экотипа MP. Характер распределения Ni по тканям корня и побега у исключателей существенно отличался. При низкой концентрации Ni в растворе, Ni был найден в клетках корневого чехлика, тогда как в клетках меристемы Ni выявлялся только при высоких концентрациях Ni в растворе. В зоне корневых волосков окрашивались главным образом клетки ризодермы и коры и в меньшей степени – клетки эндодермы. В побегах *T. arvense* Ni был найден в проводящих тканях, а у *C. bursa-pastoris* также в трихомах. Таким образом, у гипераккумулятора *N. caerulescens* Ni и Zn накапливались преимущественно в водозапасающих клетках эпидермы листа, в то время как у исключателей – главным образом в вакуолях (Ni, Zn) и клеточных оболочках (Zn) клеток коры корня.

Анализируя полученные данные, можно заключить, что разные экотипы гипераккумулятора *N. caerulescens*, обладая более высокой устойчивостью к Ni и Zn по сравнению с исключателями, в свою очередь существенно отличаются между собой как по способности накапливать ТМ, так и по устойчивости к ним. Экотип с неметаллоносных почв (LE) накапливал больше Zn, но был менее устойчив по сравнению с экотипами, произрастающими на каламиновых почвах (SF и LC), тогда как экотип с серпентиновых почв (MP) отличался не только значительно большей устойчивостью к Ni по сравнению с другими изученными экотипами, но и наибольшим его накоплением. Полученные результаты свидетельствуют о существовании различий в механизмах и причинах устойчивости к Ni и Zn у разных видов и экотипов, изучение которых является перспективным направлением будущих исследований.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Грантов РФФИ № 11-04-00513, 15-04-02236, а также Международной научной программы LOCOMET.

ОСОБЕННОСТИ МИКРОСТРУКТУРЫ ПОВЕРХНОСТИ ЛИСТА ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫХ ВИДОВ АКТИНИДИИ: ИЗУЧЕНИЕ МЕТОДОМ СКАНИРУЮЩЕЙ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ

Studies of the microstructure of leaf surface of Far East Actinidia species by scanning electronic microscopy

Козак Н.В., Мотылева С.М., Мертвищева М.Е.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский селекционно-технологический институт садоводства и питомниководства», Москва, Россия; nat.kozak09@gmail.com

В условиях антропогенного воздействия и меняющегося климата актуальной задачей является изучение стрессоустойчивости и адаптации растений – интродуцентов. Первым барьером на пути негативных факторов является поверхность растения, его кутикулярный слой. Задачей нашего исследования было применение сканирующей электронной микроскопии для изучения некоторых адаптивных признаков листа актинидии.

В ФГБНУ ВСТИСП живая коллекция лиан рода актинидия – *Actinidia* Lindley включает три вида: актинидия коломикта – *Actinidia kolomikta* (Maxim. ex Rupr.) Maxim., актинидия аргута – *Actinidia arguta (*Siebold ex Zucc.) Planch. ex Miq., в том числе, подвида джиральда – *Actinidia arguta var. giraldii* Diels., актинидия полигама – *Actinidia polygama* (Siebold ex Zucc.) Maxim. Эти виды произрастают на Дальнем Востоке России. Растения – многолетние плодовые древесные листопадные лианы. Наиболее зимостойкий вид актинидии – *Actinidia kolomikta*, он успешно интродуцируется во все зоны садоводства. *Actinidia arguta* обитает в Приморье, в южной части о. Сахалин, на о. Кунашир, островах Малой Курильской гряды. *Actinidia polygama* – наиболее теплолюбивый вид, произрастающий на юге российского Дальнего Востока. Растения указанных видов двудомны, между собой в естественных условиях переопыляться не способны, отличаются по зимостойкости, габитусу растений, морфологическим признакам цветка, плода, побега и листа. Морфоструктурные признаки листового аппарата могут служить в качестве апробационных признаков и признаков стрессоустойчивости растения, например, жаро - и морозоустойчивости. Основными апробационными признаками листа взрослых растений актинидии являются: величина листовой пластинки; консистенция; толщина листа; характер поверхности; окраска, в том числе равномерность окраски с верхней и нижней стороны листа; изменение окраски во время вегетации; изогнутость главной жилки листа; вдавленность жилок с адаксиальной стороны листа; опушенность листьев; край листа; форма основания листа, черешковой выемки, верхушки листа, черешка листа (длина, окраска, характер изгиба, опушенность).

В дополнение в качестве апробационных могут быть использованы видовые и сортовые особенности строения микроскульптуры поверхности листа, в том числе кутикулярного (воскового) слоя, который выполняет защитные функции, что имеет значение в адаптации интродуцентов в новых для них условиях произрастания. Нами были изучены особенности морфологии абаксиальной и адаксиальной сторон листа (кутикулярный слой, характер воскового слоя) на увеличениях 300-3000 крат на растровом электронном микроскопе JEOL JSM 6010LA.

Для изучаемых видов рода *Actinidia* характерна неправильная форма клеток на обеих сторонах листа. Степень извилистости антиклинальных стенок зависит от вида.

Адаксиальная сторона. Клетки листа *Actinidia arguta* при увеличении 300-500 хорошо просматриваются, контуры клеток четкие, антиклинальные стенки приподняты. При увеличении 3000 видно, что они покрыты плотным слоем мелкобугорчатого воска. При тех увеличениях контуры клеток *Actinidia polygama* практически не просматриваются из-за сильной складчатости кутикулы как по периметру, так и в средней части клеток. Восковой слой плотный, сплошной, гладкий. Клетки листа *Actinidia kolomikta* при увеличении 300-500 хорошо просматриваются, антиклинальные стенки слегка углублены. Восковой слой плотный, сплошной, тонко-пластинчатый.

Абаксиальная сторона листа. Клетки листа *Actinidia arguta* при увеличении 300-500 хорошо просматриваются, контуры клеток ясные, антиклинальные стенки на уровне поверхности, устьица слегка углублены. При увеличении 3000 обнаруживается равномерный слой мелкобугорчатого воска. Контуры клеток *Actinidia polygama* хорошо просматриваются, антиклинальные стенки подняты и формируют рельефную поверхность. Устьица расположены на уровне поверхности листа. Восковой слой плотный, сплошной, гладкий. Клетки листа *Actinidia kolomikta* при увеличении 300-500 хорошо просматриваются, антиклинальные стенки слегка углублены, устьица расположены равномерно, на уровне поверхности листа. Восковой слой плотный, сплошной, гладкий.

Таким образом, использование электронной микроскопии позволило подробно описать основные признаки поверхности листа трех видов актинидии и выявить сходство и различия в строении кутикулярного слоя, формы и особенности антиклинальных стенок, положение устьиц относительно поверхности листа и характер воскового слоя.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ РОСТА РАСТЯЖЕНИЕМ У ЗЛАКОВ

Molecular basis of elongation growth in grasses

Козлова Л.В., Агеева М.В., Горшков О.В., Ибрагимова Н.Н., Мокшина Н.Е., Горшкова Т.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук, Казань, Республика Татарстан, Россия
liudmilakibbksc@gmail.com

Ключевым процессом, определяющим конечные размеры и форму организмов животных, служит деление клеток. В отличие от них, рост растений во многом осуществляется за счет расширения и растяжения отдельных клеток, тогда как пролиферация ограничена меристематическими зонами. Рост растяжением, в свою очередь, регулируется двумя основными параметрами – тургорным давлением и растяжимостью клеточный стенки, хотя главенствующая роль отводится все же последней. При этом, несмотря на существование разнообразных моделей строения клеточных стенок, характер взаиморасположения микрофибрилл целлюлозы и матричных полисахаридов, а также механизмы, посредством которых этот молекулярный ансамбль регулирует собственную растяжимость и, как следствие, ход роста растяжением, остаются не до конца выясненными.

Целью представляемой работы было установление соответствия между архитектурой клеточных стенок II типа (присущих, в первую очередь, злакам) и этапами роста растяжением. Объектом исследования служили участки первичного корня проростков кукурузы, клетки в которых находились на разных стадиях развития. Биохимический анализ фракций клеточных стенок, полученных в результате последовательной обработки растительного материала специфическими гликан-гидралазами и хаотропными агентами, был дополнен иммунохимическим детектированием *in situ* эпитопов матричных полисахаридов на поперечных срезах корня.

Первичные (то есть способные к растяжению) клеточные стенки кукурузы (также как и клеточные стенки других представителей семейства злаковых) представляют собой несколько слоев микрофибрилл целлюлозы, переплетенных с молекулами глюкуроноарабиноксилана, и погруженных в матрикс, сформированный глюканами со смешанным типом связей. Молекулы глюкуроноарабиноксилана представляют собой остов из β-(1,4)-связанных остатков ксилозы, который может быть замещен в O(3) или одновременно в O(3) и O(2) позициях остатками арабинозы, глюкуроновой кислоты, ацетильными группами и пр. Особенности строения глюкуроноарабиноксилана (частота и тип замещения) отражаются на физических свойствах полисахарида, в частности, непосредственно сказываются на его способности к формированию надмолекулярных комплексов с микрофибриллами целлюлозы, растворимости, подверженности действию различных агентов. Согласно нашим данным, каждая молекула этого полисахарида имеет в своем составе три домена, различающихся по строению и функциям. Пропорции доменов изменяются в ходе роста растяжением в точном соответствии со скоростью этого процесса. В ходе роста клеток часть остатков ксилозы в остове полисахарида теряет арабинозные заместители. Такие модификации растительных полисахаридов в клеточных стенках осуществляются за счет действия специфических гликан-гидралаз – арабинофуранозидаз. Показано наличие арабинофуранозидазной активности в различных зонах корня проростков кукурузы. Описана ее динамика в ходе роста растяжением, обнаружено ее соответствие стадиям процесса и особенностям строения глшюкуроноарабиноксиланов в каждой зоне корня. В геноме кукурузы выявлены и охарактеризованы все гены, которые могут кодировать арабинофуранозидазы, охарактеризована их экспрессия в различных зонах растущего корня, выявлены гены, содержание транскриптов которых резко возрастает в ходе роста растяжением.

Один из доменов глюкуроноарабиноксилана в клеточных стенках кукурузы маскируется глюканом со смешанным типом связей, что было продемонстрировано с использованием иммуноцитохимического детектирования отдельных эпитопов на поперечных срезах разных зон корня. Глюкан со смешанным типом связей представляет собой неразветвленный гомополимер из остатков глюкозы, соединенных β-(1,4) или β-(1,3) связями. Полученные нами результаты поддерживают гипотезу о гелеобразном состоянии этого полисахарида в клеточных стенках. Обнаруженное изменение тонкой структуры полимера в ходе роста растяжением (снижение частоты β-(1,3) связей) может сказываться на механических свойствах этого геля.

Данные, вкратце описанные выше, позволили нам построить новую модель архитектуры клеточных стенок II типа (присущих однодольным) и ее изменений, сопровождающих рост растяжением.

Работа была частично поддержана Российским Фондом Фундаментальных Исследований (№ гранта 14-04-01002).

ВЛИЯНИЕ ГАЗОТРАНСМИТТЕРОВ НА ПРОЦЕССЫ МЕМБРАННОГО ТРАНСПОРТА РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ

Influence of gas transmitters on processes of membrane transport in plant cell

Колесникова Е.В., Озолина Н.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия; yatakol@mail.ru

Большой интерес в настоящее время вызывает изучение влияния на метаболизм клетки активных молекул газообразных веществ, которые выполняют сигнальные функции, вызывая своим воздействием биохимические изменения и участвуя в регуляции физиологических процессов. К сигнальным молекулам газообразных веществ относятся оксид азота, сульфид водорода и оксид углерода (NO, H_2S и CO). В литературе за этими соединениями закрепился термин «газотрансмиттеры». На животных объектах уже показаны пути биосинтеза этих молекул в клетке и значительный ряд функций, который они выполняют. Что же касается растений, то изучение механизмов воздействия этих газовых молекул на метаболизм растительной клетки начато совсем недавно. Однако уже ясно, что и в физиологии растений газотрансмиттеры являются важными сигнальными молекулами. Так уже показано, что они принимают активное участие в росте и развитии корней, а также модулируют многие адаптивные реакции к абиотическим стрессам. Наиболее изученным является оксид азота, поскольку он был первым на пути выяснения роли газовых молекул в биологических объектах.

В наших исследованиях изучалось влияние всех трех биологически активных молекул (NO, H_2S и CO) на уровне ткани и на уровне вакуолярной мембраны. В качестве объекта исследования были использованы корнеплоды столовой свеклы (*Beta vulgaris* L.) в период покоя. На уровне ткани изучалась проницаемость клеточных мембран в присутствии NO, H_2S и CO. Уровень проницаемости клеточных мембран оценивали по выходу электролитов в инкубационный раствор кондуктометрическим методом. В итоге был отмечен разный характер воздействия каждой из газовых молекул на проницаемость мембран. NO не оказывал заметного влияния на выход электролитов, уровень которых колебался в пределах ошибки, но, не отличался от нормы (уровня электролитов без внесения газовых молекул), тогда как в присутствии H_2S происходило достоверное снижение выхода электролитов на 17,3%, что говорит о стабилизирующем действии этого соединения на клеточные мембраны. Изучение действия CO показало противоположный эффект, уровень электролитов достоверно увеличивался на 24,7%, тем самым оказывая негативное действие на проницаемость клеточных мембран.

Для оценки влияния изучаемых газовых молекул на мембранном уровне проводились исследования по определению транспортной активности H^+-АТФазы и H^+-пирофосфатазы вакуолярной мембраны. Полученные результаты показали, что и NO и H_2S оказывали регуляторное действие на активность H^+-АТФазы и H^+-пирофосфатазы. Так, NO, независимо от используемой концентрации, вызывал достоверное увеличение транспортной активности обеих протонных помп. В случае с H_2S, также как и с NO, происходило небольшое увеличение активности, но не при всех концентрациях. В присутствии 10 мкМ NaHS (источника H_2S) было отмечено снижение уровня протонтранспортирующей активности H^+-пирофосфатазы, тогда как на активность H^+-АТФазы эта газовая молекула при этой концентрации такого влияния не оказывала. Полученные результаты позволяют предполагать зависимость регуляторных механизмов газотрансмиттеров от их концентрации. Работа по изучению влияния CO на протонные помпы вакуолярной мембраны еще ведется, а предварительные данные не позволяют делать какие-либо выводы.

Не менее интересным было исследовать роль газовых молекул в условиях стресса. В литературе все чаще стали появляться работы по влиянию газовых молекул при различных видах стресса вызванных засолением, действием тяжелых металлов, засухой и т.д. Однако практически нет информации по влиянию этих соединений в условиях окислительного стресса, одного их самых повреждающих видов абиотического стресса. В наших дальнейших исследованиях мы провели изучение влияния условий окислительного стресса в присутствии газовых молекул на проницаемость клеточных мембран и на работу вакуолярных протонных помп. Условия стресса создавали внесением пероксида водорода (50 мМ). Предварительно был выяснен уровень повреждающего действия окисляющего агента без газовых молекул. В результате исследований было установлено, что в условиях стресса только H_2S оказывает дополнительное негативное действие на проницаемость клеточных мембран, увеличивая выход электролитов на 22,5%. На уровне вакуолярной мембраны было выяснено, что в условиях окислительного стресса газовые молекулы в концентрации 100 мкМ не оказывали существенного влияния на активность H^+-АТФазы.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ (проект № 14-04-31080 мол_а).

РОЛЬ ДВИЖЕНИЯ ЦИТОПЛАЗМЫ В ДАЛЬНИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯХ ХЛОРОПЛАСТОВ ВОЗБУДИМОЙ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ

Role of cytoplasmic streaming in long-distance interactions of chloroplasts in excitable plant cell

Комарова А.В., Булычев А.А.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия; ava1945@mail.ru

Феномен направленного движения цитоплазмы известен уже более двух веков. Впервые данное явление наблюдал итальянский ботаник Бонавентура Корти в 1774 г. Циклоз встречается во многих эукариотических клетках – в водорослях, растениях, амебах, нематодах и мухах (на некоторых стадиях развития) – чаще всего в клетках аномально больших размеров. Ярким примером являются самые близкие предки высших растений - харовые водоросли. Клетки междоузлия *Chara corallina* могут достигать в длину более 10 см, а максимальные скорости потока цитоплазмы составлять 100 мкм/с. На данный момент хорошо известны механизмы, лежащие в основе направленного движения цитоплазмы, однако связь циклоза с функциональными свойствами клетки практически не раскрыта. Наряду с распределением веществ по объему клетки и выравниванием внутриклеточных градиентов, движение жидкости может выполнять и другие важные функции. Поток жидкости ускоряет обмен метаболитов между цитоплазмой и неподвижными органеллами, тем самым выполняя сигнальную функцию.

В настоящей работе рассмотрено участие направленного движения цитоплазмы в регуляции фотосинтеза и дальних взаимодействиях хлоропластов. Непрерывное движение цитоплазмы интегрирует метаболизм разных частей клетки, что особенно важно для клеток гигантских размеров, таких как междоузлия харовых водорослей. Перенос сигнальных молекул на большие расстояния в данном случае происходит значительно быстрее, чем при распространении интермедиатов посредствам диффузии. Сравнительно новый подход к выявлению роли потока жидкости в передаче сигналов в крупных клетках водорослей Characeae заключается в использовании точно позиционируемого локального освещения в сочетании с микрометодами регистрации фотосинтетической активности *in vivo* на удалении нескольких миллиметров от места приложения фотостимула. Отличительной чертой харовых водорослей является способность генерировать потенциалы действия в ответ на химические, механические и электрические стимулы. При этом происходит временная остановка кругового движения цитоплазмы. Изучение изменений флуоресценции, вызываемых локальным освещением клетки в условиях непрерывного и остановленного потока, позволят лучше раскрыть механизмы внутриклеточной сигнализации. В данной работе установлено, что кинетика изменений флуоресценции хлорофилла, опосредованных переносом сигнальных молекул в ответ на локальное освещение, в значительной степени зависит от времени и условий остановки потока цитоплазмы, вызванной возбуждением клетки. При совмещении момента электрической стимуляция клетки с действием локального освещения наблюдается задержка и замедление латерального распространения фотоиндуцированного сигнала, а также снижение пика максимальной флуоресценции в ответной реакции на прохождение сигнала. В случае, когда генерацию потенциала действия вызывали незадолго до достижения максимума изменений флуоресценции, опосредованных распространением фотоактивного метаболита, спадающий фронт становится более затянутым. При варьировании промежутка между электрической и локальной световой стимуляцией наблюдаются различные формы кривых ответов флуоресценции. Такие различия указываются на значительную роль движения цитоплазмы в транспорте фотосинтетически активного интермедиата. Полученные результаты намечают пути дальнейшего изучения регуляторной и защитной функции движения цитоплазмы в фотосинтезирующих клетках растений.

ЛОКАЛИЗАЦИЯ И НАТИВНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ДЕГИДРИНОВ В МИТОХОНДРИЯХ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА В УСЛОВИЯХ ГИПОТЕРМИИ

Localization and native organization of dehydrins in pea seedlings mitochondria under hypotermia

Кондакова М. А., Уколова И. В., Боровский Г.Б., Войников В. К.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия; kondakova-marina@mail.ru

Реакция растительной клетки на многие неблагоприятные условия сопровождается накоплением защитных белков, среди которых особую роль играют дегидрины. Благодаря своим свойствам, дегидрины, способны связывать значительное количество воды и соединяться с белками и липидами для предотвращения повреждений, вызванных обезвоживанием. Ранее нами было обнаружено накопление дегидринов в митохондриях проростков озимой пшеницы, ржи и кукурузы в ответ на действие холода, обезвоживания и обработку экзогенной АБК. При помощи электронной иммуноцитохимии клеток тканей проростков озимой пшеницы было отмечено особенно активное увеличение их содержания в период холодовой адаптации в кристах митохондрий, в которых, как известно, находится основная часть ферментов электрон-транпортной цепи (ЭТЦ) этих органелл. Это позволило нам предположить, что дегидрины могут ассоциировать с митохондриальными комплексами и суперкомплексами дыхательной цепи и защищать их в период гипотермии. В связи с этим, целью работы явилось изучение внутримитохондриальной локализации дегидринов, поиск возможной ассоциации этих белков с митохондриальными мембранными структурами, включая суперкомплексы ЭТЦ, а также исследование количественных изменений в их содержании в условиях гипотермии различной интенсивности.

В работе использовали этиолированные проростки гороха (*Pisum sativum* L., с. Аксайский Усатый 55), прошедшие различные низкотемпературные обработки, - закаливание (7˚С, 7 сут), а также мягкий (2˚С, 7 сут) и жесткий (-7˚С, 1,5 ч) стрессы. Контрольные проростки выращивали в течение 6 суток при 20˚С. Все эксперименты проводили с использованием фракции митохондрий, очищенных на ступенчатом градиенте перколла.

Анализ внутримитохондриальной локализации дегидринов с использованием протеиназы K (Thermo Scientific) и антител (Agrisera) на K-сегмент, общий для растительных дегидринов, обнаружил, что мажорный дегидрин с предполагаемой мол. массой 60 кДа, а также два минорных дегидрина с предполагаемыми массами 35 и 70 кДа локализованы главным образом во внутренней митохондриальной мембране. Дегидрин 60 кДа, по-видимому, является интегральным мембранным белком. Дальнейшее изучение нативной организации дегидринов во внутренней митохондриальной мембране при помощи двумерного голубого нативного фореза с разделением мембранных комплексов во второй денатурирующей мере (2D BNE/SDS) и последующей иммунохимической детекции этих белков антителами показало, что дегидрин с массой 60 кДа образует во внутренней митохондриальной мембране мембранный комплекс с приблизительной массой 240 кДа. Кроме того, выявлена ассоциация дегидрина 60 кДа с суперкомплексами дыхательной цепи митохондрий проростков гороха. Относительное содержание дегидринов в образцах с мембранными белками, солюбилизированными при помощи дигитонина, было наибольшим у закаленных проростков и несколько ниже у растений, подвергнутых мягкому и жесткому стрессам.

Увеличение содержания дегидринов в суперкомлексах ЭТЦ поддерживает предположение о защитной роли этих белков, а функциональную значимость высокомолекулярного дегидринового комплекса 240 кДа еще предстоит изучить.

Работа проводится при поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований, проект № 14-04-01233а.

РЕАКЦИЯ РАСТЕНИЙ ОВСА И РЕДИСА НА ОБРАБОТКУ ПРЕПАРАТОМ «АММИФУРИН» И ВОДНЫМ ЭКСТРАКТОМ ИЗ ОПАДА РАСТЕНИЙ БОРЩЕВИКА СОСНОВСКОГО *(HERACLEUM SOSNOWSKYI* MANDEN*)*

The response of oats and radish on the treatment with 'Ammofurin' and water extracts from *Heracleum sosnowskyi* Manden litter plants

Кондратьев М.Н., Бударин С.Н., Ларикова Ю.С.

Федеральное государственное образовательное учреждение высшего образования Российский государственный аграрный университет – Московская сельскохозяйственная академия им. К.А.Тимирязева, Москва, Россия; tel06ck@rambler.ru

Среди более, чем четырехсот родов семейства *Apiaceae* (сельдерейные) наибольшим содержанием фуранокумаринов характеризуются роды секции *Pubescens* Manden – *Heracleum* (борщевик) и *Ammi* (амми). На основе экстракта из плодов *Ammi majus* (Амми большая) создан препарат «Аммифурин» (используется в медицинских целях), содержащий три фуранокумарина – изопимпинеллин, бергаптен, ксантотоксин. Аналогичные и другие представители класса фуранокумаринов присутствуют в соке вегетативных органов и плодах борщевика Сосновского *(Heracleum sosnowskyi* Manden*)*. Ранее нами, при изучении механизмов инвазивности борщевика Сосновского, позволяющих ему успешно занимать дичающие агроэкосистемы и внедряться в разреженные лесные экосистемы, был выявлен ингибирующий эффект водных растворов клеточного сока его листьев на прорастание семян и рост проростков целого ряда культурных и лекарственных растений. Тем не менее, остается не выясненным, какие именно компоненты клеточного сока, которых, по данным ряда авторов, насчитывается от 20 до 40 (в зависимости от способов экстракции и методов идентификации), оказывают ингибирующее действие на рост других растений и сохраняются ли их действие в опаде вегетативных органов, образующемся в синузиях борщевика Сосновского.

В синузиях борщевика с плотным стеблестоем поверхность почвы практически полностью лишена растительного покрова. Это можно объяснить или отсутствием достаточного для других растений светового потока (световое довольствие (СД) < 10%) даже в полуденные часы солнечных дней, или наличием веществ ингибиторной природы, которые могут содержаться в обильном опаде (засохшие листья, цветоносы, элементы цветков, плоды) с растений в осенне-весенний период). Исследование проводилось посредством сравнения эффекта водных вытяжек из опала растений борщевика Сосновского и раствора аммифурина на растения Редиса (с. Сакса) и овса (с. Конкур).

Регулярный полив сосудов водной вытяжкой из опада борщевика Сосновского и раствором препарата «Аммифурина» практически не отразился на внешнем облике растений редиса и несколько угнетал рост растений овса. Однако растения редиса обоих опытных вариантов, при относительно равном количестве листьев, имели большую площадь ассимиляционной поверхности, по сравнению с растениями, которые поливались водой. При этом положительная ответная реакция растений редиса была более выражена на полив экстрактом из опада борщевика (116%) и в меньшей степени при поливе водным раствором «Аммифурина» (107%). Однако расчет наименьшей существенной разности с 95%-ным уровнем достоверности позволил выявить положительный эффект водного раствора «Аммифурина» на накопление сухой массы корнеплодом редиса. Так как сухая масса листьев растений этого варианта практически равнялась таковой у растений контроля, можно предположить, что фуранокумарины способствовали оттоку фотоассимилятов из листьев в корнеплод, по видимому, за счет усиления его аттрагирующей способности. Полив растений овса водным раствором «Аммифурина» не влиял на содержание сухого вещества в стеблях, листьях и корнях, но увеличивал его содержание в метелке. Водный экстракт из опада растений борщевика не оказывал эффекта на содержание сухого вещества ни в одном из исследованных органов растений овса. Помимо этого, экстракт из опада борщевика не влиял, как на количество зерен в метелке, так и массу 1000 зерен. С другой стороны, фуранокумарины препарата «Аммифурин» увеличивали озерненность метелки на 51%, в то время, как масса 1000 зерен уменьшалась на 16% по сравнению с контролем.

На основании проведенного исследования можно сделать следующие выводы:

1) Водная вытяжка из опада (отмершие листья, цветоносы, кусочки коры стебля, плоды), образующегося в синузиях борщевика Сосоновского в осеннее-зимний период, не оказывала ингибирующего или стимулирующего эффекта на рост и развитие тест-растений, что может косвенно свидетельствовать об отсутсвии (низкой концентрации) в опаде фуранокумаринов.

2) Водный раствор препарата «Аммифурин», содержащий фуранокумарины (изопимпинеллин, бергаптен, ксантотоксин), оказывал, преимущественно, стимулирующее действие на накопление сухой массы корнеплодом редиса и метелкой овса.

3) Растения овса, регулярно поливаемые раствором «Аммифурина», имели большую озерненность метелки, но существенно меньшую массу 1000 зерен.

ВОЗДЕЙСТВИЕ СПЕКТРАЛЬНОГО СОСТАВА СВЕТА И ИМПУЛЬСНОГО ОСВЕЩЕНИЯ НА ФОТОСИНТЕЗ И ПРОДУКЦИОННЫЙ ПРОЦЕСС КИТАЙСКОЙ КАПУСТЫ *BRASSICA CHINENSIS* L.

Impact of light spectral composition and pulsed illumination on the photosynthesis and the production of Chinese cabbage (*Brassica chinensis* L.)

Коновалова И.О.[1], Беркович Ю.А.[1], Смолянина С.О.[1], Ерохин А.Н.[1], Яковлева О.С.[2], Тараканов И.Г.[2]

[1] *Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия*

[2] *Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева, Москва, Россия*

berkovich@imbp.ru

Возможность автотрофного существования зеленых растений обеспечивается их способностью использовать энергию света для синтеза органических соединений. Интенсивность и качество света, продолжительность, периодичность и направленность светового потока служат внешними сигналами, приводящими к изменениям структуры и функциональной активности фотосинтетического аппарата, роста и развития растений, процессов морфогенеза.

Известно, что в энергетическом отношении наиболее эффективно облучение посевов красным светом с длиной волны в области максимума поглощения хлорофилла а (660 нм). Однако регуляторное действие света различных областей спектра может быть весьма разнообразным в зависимости от видовой специфики и физиологического состояния растений, а также от факторов окружающей среды (например, минерального питания, температуры), что значительно усложняет выбор спектров облучения, оптимальных для жизнедеятельности растения. Помимо спектрального состава светового потока, значительное влияние на работу фотосинтетического аппарата и продуктивность растений может оказывать импульсный характер излучения. В ряде работ было продемонстрировано, что растения используют импульсное освещение более эффективно, чем непрерывное. Однако данные о воздействии импульсного освещения на рост и фотосинтез растений в настоящее время немногочисленны, разрозненны и несколько противоречивы, что не позволяет сделать какие-либо обоснованные заключения.

Влияние спектрального состава света и импульсного освещения на фотосинтез и продукционный процесс растений китайской капусты изучали в серии экспериментов, включающей 16 независимых опытов, выбранных в соответствии с разработанным планом 3-факторного эксперимента. Растения выращивали под светильником, выполненным на основе белых (пики 440 и 560 нм, цветовая температура 4000 К) и красных (660 нм) светодиодов (СД) при различных параметрах светового режима. Уровень суммарной средней по времени плотности потока фотонов (ППФ) в опытах варьировал от 260 до 500 мкмоль/($м^2$ с), доля красной части спектра излучения – от 32% до 77%, период световых импульсов, подаваемых от источника света на посев - от 52 до 400 мкс при фиксированной продолжительности световой вспышки 30 мкс.

Проведенные опыты продемонстрировали значительное влияние выбранных параметров светового режима – уровня ППФ, доли красного света в общем потоке ФАР и импульсного характера излучения – на рост газообмен и биохимический состав растений. Показано, что при различных световых режимах различия между максимальным и минимальным значениями показателей растений (содержание хлорофиллов в листьях, сухих веществ, аскорбиновой кислоты и нитратов) могут составлять порядка 300%. Импульсное освещение растений белым светом оказало слабое стимулирующее воздействие на накопление сухих веществ в побегах. На основании полученных результатов предложена модель накопления сухой массы побегов, выявившая глобальный максимум при уровне ППФ около 500 мкМ/($м^2$×с) и доле красного света в общем потоке ФАР около 70%.

ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ В ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ ЗОН АКТИВНОГО ВУЛКАНИЗМА САХАЛИНА И КУРИЛЬСКИХ ОСТРОВОВ

Structural features of different woody plants under extreme conditions in the regions of active volcanism in Sakhalin and Kurile Islands

Копанина А.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт морской геологии и геофизики Дальневосточного отделения Российской академии наук, Южно-Сахалинск, Россия; a.kopanina@imgg.ru

Вулканизм является мощным природным фактором, оказывающим существенное воздействие на окружающую среду. Это воздействие может быть весьма разнообразным – прямое разрушение объектов окружающей среды продуктами вулканических извержений, трансформация растительного и почвенного покрова, эмиссия огромных объемов вулканических газов в атмосферу и др. Воздействие вулканизма приводит к формированию уникальных природных ландшафтов со специфическим сочетанием абиотических факторов, определяющих разнообразие экотопов на ограниченной территории. Проявления современных вулканических процессов, трансформирующих в различной степени природную среду довольно разнообразны – это эксплозивная и эффузивная деятельность, сопровождающаяся пирокластическими и лавовыми потоками, пеплопадами, гидротермальная и фумарольная активность, лахары, сухие речки, грязевые потоки и прочие. На территории России Охотский регион, включающий Сахалин и Курильские острова и полуостров Камчатка является единственным и уникальным регионом, где активные геодинамические процессы Земли выражены столь ярко в деятельности магматических вулканов. Практически все сказанное относится и к такой разновидности вулканизма как грязевой вулканизм. В выбросах грязевых вулканов содержатся экологически опасные (токсичные) химические вещества, поскольку грязевулканические воды и брекчии обогащены ртутью, мышьяком, литием и бором, концентрации которых выше кларковых.

Изучение степени выраженности структурных изменений растений на различных уровнях организации (от тканевых комплексов, клеток, внутриклеточных структур и макромолекул) в зависимости от интенсивности и длительности вулканической деятельности, а также удаленности от эруптивного центра. Решение этой задачи позволило не только раскрыть механизмы структурных адаптаций, но и открыло бы пути к разработке эффективных алгоритмов решения обратной задачи – оценки вулканической активности по биоэкологическим признакам. Изучение структурных реакций и адаптаций древесных растений, часть из которых произрастает на северной границе ареалов, на действие современных вулканических проявлений в условиях холодно-умеренного и холодного климата Сахалина и Курильских островов, где ряд экологических факторов находятся в значительной степени напряженности, является на наш взгляд значимым и актуальным. В последние годы нами предприняты инициативные исследования по изучению структурных особенностей растений в условиях вулканических ландшафтов Курильских островов. Эти работы выполнены впервые в мировой практике.

Целью наших исследований является изучение структуры древесных растений различных жизненных форм и экологических групп по данным анатомии коры стебля, как адаптивного отклика на воздействие экстремальных условий зон активного вулканизма Сахалина и Курильский островов. Авторами впервые выполнен сравнительно-анатомический анализ стеблей (коры и древесины) 12 видов древесных растений из семейств *Pinaceae* (1 вид), *Betulaceae* (1 вид), *Ericaceae* (5 видов), *Hydrangeaceae* (1 вид), *Rosaceae* (2 вида), *Anacardiaceae* (1 вид), *Araliaceae* (1 вид), различных жизненных форм (деревьев, кустарников, кустарничков, стланничков и лиан) произрастающих в условиях гидросольфатарной активности вулканов южных Курильских островов. Анализ полученных результатов позволяет сделать ряд выводов об изменении структуры коры и древесины стеблей изученных с гидротерм и сольфатарных полей активных вулканов о-ва Кунашир – вулкан Менделеева и кальдера вулкана Головнина. Нами впервые выявлены две тенденции в изменении структуры стебля: первая, проявляющаяся под действием гидротермальной активности и вторая, возникающая под воздействием газовых выбросов вулканических сольфатар и фумарол. Различная реакция тканей стебля на условия гидротерм и сольфатарных полей связана, вероятно, с различной водообеспеченностью растений. Структурные отклонения от нормального роста выражены в эксцентричности стебля за счет различной ширины вторичной флоэмы и ксилемы на разных участках стебля; формирования ложных годичных колец вторичной ксилемы; формирования структурно аномальных зон, локализованных небольшими участками и включающих ткани коры и древесину или отдельные тканевые комплексы коры. Растения с сольфатар приобретают ксероморфный облик, выражающийся в следующих структурных особенностях: мелкоклетность, склерификация паренхимных тканей, увеличение числа кристаллов в паренхиме первичной коры и вторичной флоэмы у отдельных видов. В стеблях, в условиях гидротермальных источников в сравнении с нормой, имеет место: длительное сохранение первичных покровных тканей, уменьшение ширины перидермы и феллемы, усилении склерификации, изменение соотношения паренхимных тканей и проводящих элементов во вторичной флоэме и ксилеме, изменение соотношения коры, древесины и сердцевины.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 15-04 -04774).

СТРУКТУРНЫЕ АДАПТАЦИИ ДРЕВЕСНОЙ ЛИАНЫ TOXICODENDRON ORIENTALE GREENE В УСЛОВИЯХ ГАЗОГИДРОТЕРМ ВУЛКАНА МЕНДЕЛЕЕВА (О-В КУНАШИР, ЮЖНЫЕ КУРИЛЬСКИЕ ОСТРОВА)

Structural adaptation of woody liana *Toxicodendron orientale* Greene in a gas-hydrothermal spring Mendeleev volcano (Kunashir Island, Southern Kuriles)

Копанина А.В., Власова И.И., Еремин В.М.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт морской геологии и геофизики Дальневосточного отделения Российской академии наук, Южно-Сахалинск, Россия; a.kopanina@imgg.ru

Вопросы влияния вулканических газов и геохимических условий субстратов газодидротермальных выходов, эксплозивных извержений, сопровождающихся пеплопадами, лавовыми потоками, на внутреннюю структуру сосудистых растений освящены в литературе крайне слабо. Примеры сравнительно-анатомического исследования структуры стебля древесных растений, произрастающих в условиях воздействия вулканической активности на территории Курильских островов, в мировой практике отсутствуют. В последние годы наш коллектив проводит исследования структурных реакций и адаптаций древесных и полудревесных растений в условиях ландшафтов, измененных современной деятельностью магматических вулканов Курильских островов и настоящая работа является частью этого направления исследований.

Выполнено исследование анатомических особенностей коры и древесины *Toxicodendron orientale* Greene, дальневосточной лианы, произрастающей в условиях вулканических ландшафтов острова Кунашир, Южные Курильские острова. Для исследования образцы разновозрастных стеблей и стволики лиан взяты в лесных и кустарниковых сообществах по берегам газогидротермальных источников у подножия вулкана Менделеева и в хвойно-широколиственном лесу острова Кунашир, не затронутом вулканической деятельностью. Продольные и поперечные микросрезы изготовлены на санном микротоме. Микропрепараты проанализированы с помощью методов световой микроскопии. Сделаны надежные статистические оценки для изучаемых количественных характеристик тканей коры и для некоторых параметров древесины разного возраста.

Специфическими условиями ландшафтов, измененных газогидротермальной активностью вулканов острова Кунашир, являются повышенная температура почвы и приземного слоя воздуха, повышенная влажность, высокие концентрации соединений серы и мышьяка. В этих условия растения *Toxicodendron orientale* только вегетируют, а стебли и листья имеют выраженные термальные повреждения.

Изучены онтогенетические особенности тканей коры и древесины *Toxicodendron orientale*. В анатомическом строении коры вид является весьма специфичным. Для него характерны: гетерогенные феллема и паренхима первичной коры, камеденосные ходы в первичной коре и вторичной флоэме, «шапковидные» группы тонкостенных периваскулярных волокон и специфичный характер формирования корней-присосок.

В коре разновозрастных стеблей (1-12 лет) в норме и в условиях газогидротерм вулкана Менделеева были даны статистические оценки и проанализированы более 40 количественных параметров тканей и клеток. Среди них выявлены ряд показателей, изменяющихся под воздействием гидротермальных источников. В стеблях разного возраста уменьшается ширина коры, паренхимы первичной коры, число кристаллов в паренхиме первичной коры, число и диаметр секреторных ходов первичных и вторичной флоэмы. Ширина перидермы (в 2 раза в однолетнем стебле) и феллемы, напротив, увеличивается, как за счет увеличения радиального размера клеток феллемы, так и их числа. Членики ситовидных трубок длиннее и меньшего диаметра в стеблях первого года и многолетних. Во вторичной флоэме аксиальная паренхима имеет диффузное распределение, связана с ситовидными трубками и не образует тангентальных рядов, различимых на поперечном срезе в норме.

В условиях газогидротерм формируется древесина, насыщенная аксиальной паренхимой. Выявлена тенденция к усилению рассеяннососудистости и контакту сосудов и трахеид с паренхимными клетками. Формируются эксцентричные ложные годичные кольца, граница слоев прироста не выражена, изменяется соотношение между сосудами ранней и поздней древесины, изменяется рисунок сосудов на поперечном срезе, увеличивается число сгруппированных сосудов, увеличивается сопряженность паренхимы и сосудов. Уменьшается ширина годичных слоев прироста и диаметры сосудов. В дефинитивной ксилеме изменяется характер распределения древесной аксиальной паренхимы. Приуроченность ее к концу годичного слоя прироста не выражена. При этом, на участках, где преобладает паренхима волокнистые элементы встречаются одиночно или в виде тангентально вытянутых крыловидных фрагментов, просматриваемых на поперечном срезе. Увеличивается число многорядных лучей.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 15-04 -04774).

МОРФО-БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИРОВОЙ КОЛЛЕКЦИИ РЕПЫ *BRASSICA RAPA* L. SUBSP. *RAPA* В РАЗЛИЧНЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ

Morpho-biological characteristics of the world collection of turnip *Brassica rapa* L. subsp. *rapa* in different ecological conditions

Корнюхин Д.Л., Артемьева А.М., Соловьева А.Е.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-сследовательский институт растениеводства имени Н.И. Вавилова», Санкт-Петербург, Россия; dkor@list.ru

Мировая коллекция репы *Brassica rapa* L. subsp. *rapa*, хранящаяся в ВИР, отражает большую часть мирового разнообразия этой культуры. Коллекция начала формироваться в 20-е годы 20 века за счет выписки образцов из-за рубежа, экспедиционных сборов, поступлений из сельскохозяйственных учреждений СССР. Коллекция репы ВИР на сегодняшний момент составляет более 400 образцов из 32 стран мира, и продолжает пополняться.

С момента начала формирования коллекция репы активно изучалась. Вопросы классификации репы впервые были рассмотрены Е.Н. Синской в работе 1928 г. «Масличные и корнеплоды семейства *Cruciferae* L.». Сорта репы были разделены на кормовые и столовые; выделены основные группы по форме («типу») и опушению листа, форме и окраске корнеплода, по окраске мякоти. Согласно классификации М.А. Шебалиной («Репа, турнепс и брюква», 1974), репа делится на пять подвидов и 44 сортотипа в составе подвидов.

Репа является скороспелой культурой с коротким периодом вегетации, что позволяет получать в открытом грунте несколько урожаев в год. Посев одного и того же набора сортов с разницей в шесть недель позволяет смоделировать разные экологические условия на одном поле. На сегодняшний момент пригодность сортов и для весеннего и для летнего сроков посева не изучена в должной степени, исследования компонентов биохимического состава проведены только на единичных сортах.

В полевых условиях Пушкинского филиала ВИР в 2014 г. были изучены 105 коллекционных образцов репы столовой и турнепса. Для работы отобрали образцы, отличающиеся по происхождению, внутривидовой эколого-географической принадлежности, а так же новый поступивший в коллекцию материал. Посев проводился в два срока (22 мая и 1 июля), каждый образец высевался на однорядковой делянке длиной 1,5 м в трех повторностях в каждом сроке посева. Проводился учет морфологических и хозяйственных признаков образцов согласно «Методическим указания по изучению и поддержанию коллекции корнеплодов (свекла, репа, турнепс, брюква)» (под ред. В.И. Буренина, 1989). Корнеплоды отбирались для проведения биохимического анализа.

В 2014 г. средняя температура воздуха в мае, июне, июле, августе и сентябре была выше средней многолетней соответственно на 3,9ºС, 1,1ºС, 4,2ºС, 3,6ºС, 4,2ºС. Сумма активных температур за период вегетации составила 2637ºС. В мае выпало 67,9 мм осадков – в полтора раза больше месячной нормы, такая же ситуация была в июне (86 мм при норме 59 мм). Июль был засушливым, выпало 21 мм осадков при норме 74 мм. В августе количество выпавших осадков равнялось среднегодовому, в сентябре осадков выпало в два раза меньше среднегодовой нормы. За весь период вегетации выпало 178,1 мм осадков.

Для оценки развития фотосинтетического аппарата растений репы проводились замеры розетки листьев, измерялась высота растения. Существенность отличий между средними изученных показателей оценивали с использованием t-критерия Стьюдента. Для 18 образцов репы отличия были существенными, причем средние значения диаметра и высоты розетки во всех случаях были больше при летнем, чем при весеннем посеве. Среди этих образцов были представители сортотипов Остерзундомский (к-1225, Thule Ostersundom, Швеция, к-1034, du Palatinat, Франция), Петровская (образцы к-803, Соловецкая, Россия, к-1049, Местная, Россия, респ. Коми), и других. Среди образцов турнепса удалось найти образцы, значимо превышающие стандарт Остерзундомский по средней массе корнеплода с делянки при весеннем посеве. Это образцы к-1018, d'hiver de Montesson, Франция (162% к стандарту), к-1294, Tartonda (Tetraploid), Германия (184% к стандарту), и некоторые другие.

У 20 образцов репы проведено исследование биохимических показателей корнеплодов, полученных для одих и тех же образцов двух сроков посева. Стабильным и высоким содержанием сухого вещества обладал образец к-821, Гробовская, Россия (12,56% и 11,16% для весеннего и летнего срока посева). Наибольшее количество аскорбиновой кислоты обнаружилось в корнеплодах образцов к-821, Гробовская, Россия, вр.к. 2167, Дуняша и к-1248, Green Tancard, Великобритания. Для 20-ти образцов была отмечена тенденция к более высокому содержанию витамина С и общего белка в корнеплодах второго (летнего) срока посева, и более высокому содержанию каротиноидов в корнеплодах первого (весеннего) срока посева.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ 13-04-00128.

НАКОПЛЕНИЕ И РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЦИТОКИНИНОВ У РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ, ОБРАБОТАННЫХ ЗЕАТИНОМ И ЕГО РИБОЗИДОМ

Cytokinin accumulation and distribution in wheat plants treated with zeatin and its riboside

Коробова А.В.[1], Ахиярова Г.Р.[1], Кудоярова Г.Р.[1], Веселов С.Ю.[2]

[1] *Уфимский институт биологии РАН, Уфа, Россия; muksin@mail.ru*
[2] *Башкирский государственный университет, Уфа, Россия; respectableman@yandex.ru*

Цитокинины участвуют в регуляции многих процессов в растениях, неодинаково влияя на функции побегов и корней. Так, они стимулируют рост побега, но могут подавлять рост корней. Поэтому транспорт цитокининов, обеспечивающий изменение их уровня и распределение между органами растений, играет важную роль в обеспечении адаптивных ростовых реакций. Зеатин (З) и его рибозид (ЗР) являются подвижными формами цитокининов, способными к простой диффузии через мембраны. Тем не менее, в мембранах двудольных растений арабидопсиса выявлены переносчики, способствующие транспорту цитокининов в клетки против градиента их концентрации. Активному переносу цитокининов у однодольных растений уделялось меньше внимания. Мы провели сравнительное изучение влияния протонофора карбонилцианид-м-хлорфенилгидразона (КЦХГ) на накопление и распределение цитокининов в растениях пшеницы при внесении в питательную среду З или ЗР. Протонофоры разрушают градиент ионов водорода между клеткой и апопластом и тем самым ингибируют энергозависимый трансмембранный перенос.

Содержание цитокининов в экстракте из побегов и корней растений и в питательной среде анализировали с помощью иммуноферментного анализа. Распределение цитокининов в тканях растений оценивали с помощью иммуногистохимического подхода, используя специфические антитела к гормонам.

При добавлении в питательную среду З, концентрация цитокининов возрастала в растениях в большей степени, чем при добавлении ЗР. Иммуногистохимическое окрашивание срезов корней выявило большее увеличение интенсивности окрашивания клеток у растений, обработанных З по сравнению с обработкой ЗР, что свидетельствует о меньшем поглощении и накоплении ЗР клетками корней пшеницы. При этом различия в убыли этих двух экзогенных гормонов из питательного раствора были менее существенными, что не позволяет объяснить неодинаковый уровень накопления цитокининов растениями разницей в скорости их поглощения из питательного раствора. Вероятно, поступление цитокининов в растение происходило пассивно с транспирационным током.

Доля цитокининов в побегах растений, обработанных ЗР, была выше, чем у обработанных З, что соответствовало более низкому уровню поглощения ЗР клетками корней. Ингибирование протонофором активного поглощения З снижало иммунное окрашивание клеток у обработанных З растений и повышала отток цитокининов в побег. Эти результаты позволили нам сформулировать гипотезу о том, что активное поглощение цитокининов клетками корней предотвращает отток этих гормонов в побег по апопласту ксилемных сосудов.

Убыль цитокининов из питательного раствора превышала уровень их накопления в растениях, что указывает на распад части поглощенных цитокининов. Таким образом, можно было предполагать, что более низкий уровень накопления цитокининов у растений, обработанных ЗР по сравнению с растениями, обработанными З, мог быть результатом более активного распада ЗР. Тем не менее, измерение активности цитокининоксидазы (фермента, катализирующего окислительный распад цитокининов), не выявило ее изменений в корнях растений, обработанных экзогенными гормонами, а в побегах активность фермента хотя и возрастала, но в одинаковой степени при обработке обоими формами цитокининов. Мы предположили, что различия в степени инактивации экзогенных З и ЗР могут быть связаны не с уровнем фермента, а с распределением гормонов между содержимым клеток и апопластом. Для большинства цитокининоксидаз показана их экскреция в апопласт. Внутри клетки наличие разделенных мембранами компартментов может делать цитокинины недоступными для действия цитокининоксидаз, в то время как в апопласте они более доступны для фермента. Таким образом, более низкий уровень накопления цитокининов у растений, обработанных ЗР, может объясняться тем, что они в меньшей степени, чем З, поглощались клетками, и, оставаясь в апопласте, подвергались инактивации под влиянием цитокининоксидаз.

Предположению о том, что более низкий уровень накопления цитокининов у растений, обработанных ЗР, связан с меньшим уровнем их накопления в клетках и преимущественным нахождением в апопласте, соответствовали результаты опытом с КЦХГ. Под его влиянием снижался уровень накопления цитокининов в клетках корней, обработанных З, что сопровождалось резким падением общего содержания цитокининов в растении. При этом накопление цитокининов у растений, обработанных ЗР, изменялось под влиянием КЦХГ в меньшей степени. Измерение активности цитокининоксидазы показало, что обработка КЦХГ не приводила к инактивации этого фермента. Таким образом, в совокупности, полученные нами результаты свидетельствуют о преимущественном транспорте ЗР по апопласту, где он может инактивироваться цитокининоксидазой, и активном поглощении З клетками корней, что в какой-то мере защищает его от инактивации, но снижает отток в побег.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ 13-04-00666.

СЕЗОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СОДЕРЖАНИИ СТРЕССОВЫХ БЕЛКОВ В ХВОЕ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ, ЕЛИ СИБИРСКОЙ, ЛИСТВЕННИЦЫ СИБИРСКОЙ И ЛИСТВЕННИЦЫ ГМЕЛИНА

Seasonal changes in the content of the stress proteins in the needles of Common pine, Siberian spruce, Siberian larch and Gmelin larch

Коротаева Н.Е., Иванова М.В., Суворова Г.Г., Боровский Г.Б.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия; knev73@sifibr.irk.ru

Под действием стрессирующих факторов внутриклеточные белки претерпевают неспецифические конформационные изменения, что препятствует восстановлению клеток после нелетального воздействия. Стрессовые белки (белки теплового шока, или heat shock proteins, сокращенно Hsp) защищают внутриклеточные белки от денатурации, предотвращают их агрегацию и способствуют тому, что поврежденные полипептиды возвращаются к неденатурированному состоянию. Разнообразные внешние факторы (высокая и низкая температуры, УФ излучение, осмотический стресс и др.) приводят к накоплению Hsp, что способствует формированию устойчивости к данному воздействию. Было показано, что Hsp70, Hsp60 и дегидрины накапливаются в хвое сосны обыкновенной в холодное время года, тогда как Hsp101 и Hsp17.6 – в середине лета. Таким образом, была показана сезонная динамика изменения содержания этих Hsp, которая объясняется необходимыми сезонными адаптациями. Целью данной работы было сравнить сезонную динамику Hsp в период вегетации у вечнозеленых хвойных деревьев, относящихся к различным экологическим группам, ксерофитов (сосна) и мезофитов (ель), а также у листопадных хвойных, ареал распространения которых отличается по условиям обитания. Так, распространение лиственницы сибирской приурочено к подогреваемым, дренированным участкам, тогда как ареал лиственницы Гмелина почти полностью совпадает с зоной сплошного распространения многолетней мерзлоты. Для исследования в 2012 г. отбирали хвою (второго года у сосны и ели) с 30-летних деревьев с экспериментального насаждения СИФИБР, экстрагировали из нее общий белок смесью метанол-хлороформ с последующим Вестерн-блоттингом. Hsp выявляли с помощью первичных антител против цитоплазматических Hsp101 и Hsp17.6 (Agrisera) и вторичных антител, конъюгированных с щелочной фосфатазой.

В апреле, мае и июле 2012 г. значения суммы осадков значительно превышали среднемноголетние значения этого периода, в остальное время уровень увлажнения был оптимальным. Среднемесячная температура воздуха была выше среднемноголетних значений почти все месяцы наблюдений. Среднемесячные значения температуры почвы на глубине 20 см были ниже среднемноголетних значений ввиду высокого уровня увлажнения всего периода вегетации. Уровень солнечной радиации незначительно отличался от среднемноголетних значений. Климатические условия в 2012 г. были благоприятными для вегетации хвойных. Накопление Hsp17.6 было отмечено для хвои сосны в середине лета (июнь-июль), что согласуется с нашими более ранними данными. В хвое ели Hsp17.6 накапливался в это же время. В середине лета увеличивалось содержание Hsp17.6 у лиственницы сибирской и в июле оказалось выше, чем у ели и лиственницы Гмелина, у которой наибольшее содержание этого белка было обнаружено в конце весны - начале лета (май-июнь), а не в июле, как у остальных видов, и неуклонно снижалось к окончанию периода вегетации. Иная динамика изменения содержания Hsp17.6 у лиственницы Гмелина, возможно, указывает на другой путь регуляции содержания этого белка по сравнению с остальными видами. В зоне вечной мерзлоты, ее естественном ареале обитания, оттаивание верхнего слоя почвы и необходимое для лиственниц насыщение его влагой происходит позднее, когда уровень солнечной радиации близок к летнему максимуму. Вероятно, более раннее по сравнению с другими видами накопление Hsp17.6 связано с тем, что начало вегетации у них происходит при высоком уровне освещенности, когда может случиться перегревание хвои. Не выявлено четкой динамики в сезонном изменении содержания Hsp101 в хвое сосны и ели, что противоречит нашим прошлым данным. Возможно, характер изменения содержания этого белка в хвое зависит от условий данного вегетационного периода. В хвое сосны наибольшее содержание Hsp101 отмечено в марте. Такая картина подтверждает данные о том, что Hsp101 может играть важную роль также в условиях низкотемпературного стресса. У лиственниц обоих видов Hsp101 выявить не удалось, причиной этого может быть выбранный способ экстракции белков или специфичность антител. Таким образом, впервые были выявлены стрессовые белки Hsp17.6 и Hsp101 у ели сибирской и Hsp17.6 у лиственницы сибирской и лиственницы Гмелина. Не обнаружено различий в накоплении этих белков в хвое деревьев, относящихся к различным экологическим группам, и четкой связи между накоплением этих белков и способностью хвои к перезимовке. Однако, характер накопления Hsp17.6 для лиственницы Гмелина отличался от такового для других деревьев, несмотря на благоприятные условия вегетации в период наблюдений. Возможно, иная динамика изменения содержания Hsp17.6 у лиственницы Гмелина связана со способностью этого дерева произрастать в условиях многолетней мерзлоты.

ВЛИЯНИЕ ТЕБУКОНАЗОЛ-СОДЕРЖАЩЕГО ПРЕПАРАТА БУНКЕР НА МОРОЗОУСТОЙЧИВОСТЬ ЯРОВОЙ И ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ

Influence of Tebuconazol-containing preparation Bunker on the frost-resistance of spring and winter wheat

Корсукова А.В.[1,2], Грабельных О.И.[1,2], Боровик О.А.[1], Дорофеев Н.В.[1], Побежимова Т.П.[1], Войников В.К.[1]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия; avkorsukova@gmail.com*

[2] *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Иркутский государственный университет», Иркутск, Россия*

Целью работы явилось изучение влияния тебуконазола (1-(4-хлорфенил)-4,4-диметил-3-(1Н-1,2,4-триазол-1-илметил)-3-пентанола) на параметры устойчивости проростков мягкой яровой (с. Новосибирская 29) и озимой (с. Иркутская) пшениц к низкой температуре. В экспериментах использовали тебуконазол-содержащий протравитель семян «Бункер» – системный фунгицид профилактического и лечебного действия (ЗАО Фирма «Август») и тебуконазол (Tebuconazol PESTANAL, Sigma-Aldrich, Германия). Семена обрабатывали «Бункером» (0,5-5 л/т) непосредственно перед посевом (замачиванием). Этиолированные проростки яровой и озимой пшеницы выращивали при 24˚С. Холодовое закаливание 3-х сут проростков проводили в течение 7-ми сут при 2˚С. Промораживание холодозакаленных проростков проводили при температуре –7˚С в течение суток, затем в течение 24 ч температуру повышали до 2˚С, после чего растения оставляли для отрастания в течение 3-х сут при 24˚С.

Посредством изучения окислительной и фосфорилирующей активности митохондрий 3-х сут этиолированных проростков яровой пшеницы, был выявлен явный концентрационно-зависимый ингибирующий эффект тебуконазола на дыхательный метаболизм растений. Наряду с неизменной скоростью нефосфорилирующего дыхания митохондрий при окислении малата происходило ингибирование скорости фосфорилирующего дыхания, снижался коэффициент дыхательного контроля и отношение АДФ:О.

Будучи ретардантом, тебуконазол в составе препарата «Бункер» оказывал концентрационно-зависимое ингибирующее действие на длину колеоптилей яровой и озимой пшеницы. Концентрация «Бункера» 0,5 л/т вызывала ингибирование длины колеоптилей яровой пшеницы на 28%, озимой пшеницы на 30%, а концентрация 5 л/т – яровой пшеницы на 56%, озимой пшеницы на 53%. При этом обработка семян «Бункером» различной концентрации (1,5; 3; 4 и 5 л/т) не приводила к гибели клеток колеоптилей исследуемых злаков.

На этиолированных проростках яровой пшеницы была выявлена способность «Бункера» приводить к увеличению содержания водорастворимых сахаров в их побегах. По сравнению с содержанием сахаров в побегах проростков из необработанных «Бункером» семян (контроль), содержание водорастворимых углеводов в побегах незакаленных проростков, выращенных из семян, обработанных «Бункером» в концентрации 1,5 л/т, на 3-и и на 10-е сут роста было больше на 20% и на 53%, соответственно. Вероятно, увеличение содержания сахаров на 3-и сут роста проростков может объясняться их меньшим расходованием на дыхание. Так, в данном возрасте у проростков из обработанных «Бункером» семян наблюдалось снижение скорости поглощения кислорода клетками колеоптилей на 12%. В побегах холодозакаленных проростков яровой пшеницы, выращенных из обработанных «Бункером» семян, содержание углеводов было на 19% больше по сравнению с холодозакаленным контролем. После промораживания холодозакаленных растений содержание сахаров в проростках, выращенных из обработанных «Бункером» семян, также оставалось повышенным (на 6%) по сравнению с контрольными проростками. Данный эффект «Бункера» в проростках озимой пшеницы был менее выражен, хотя общая тенденция к увеличению содержания водорастворимых углеводов в проростках, выращенных из обработанных «Бункером» семян, присутствовала.

Обработка семян яровой и озимой пшеницы «Бункером» в концентрации 1,5 л/т сопровождалась повышением выживаемости холодозакаленных проростков после их промораживания. Так, выживаемость после промораживания закаленных проростков из семян, обработанных «Бункером», у яровой пшеницы увеличилась в 3 раза, а у озимой пшеницы – в 1,5 раза.

Полученные результаты позволяют заключить, что обработка семян тебуконазол-содержащим препаратом «Бункер» повышает устойчивость этиолированных проростков яровой и озимой пшеницы к низкой температуре и не оказывает губительного действия на клетки проростков злаков (даже в концентрации 5 л/т, в 10 раз превышающей рекомендованную концентрацию для достижения фунгицидного эффекта). Можно предположить, что повышение морозоустойчивости этиолированных проростков яровой пшеницы к низкой температуре происходит за счет влияния тебуконазола на углеводный и дыхательный метаболизм. Механизмы повышения устойчивости к низкой температуре проростков озимой пшеницы после обработки семян «Бункером» пока остаются неясными.

ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТРИСТИКИ РЯДА ГАЛОФИТОВ В УСЛОВИЯХ ПРИЛИВНОЙ ЗОНЫ БЕЛОГО МОРЯ

Photosynthetic and biochemical characteristics of some halophytes at the coastal zone of the White Sea

Кособрюхов А.А.[1], Марковская Е.Ф.[2], Новичонок Е.В.[3]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук, Пущино, Россия; kosobr@rambler.ru*
[2] *Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия; volev10@mail.ru*
[3] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт леса Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Роосия; enovichonok@inbox.ru*

В настоящее время все больший интерес исследователей вызывает жизнедеятельность организмов, обитающих в нестабильных условиях побережий приливных морей. В этих условиях обитания у растений сформировались различные адаптивные механизмы, обеспечивающие условия для нормальной жизнедеятельности за счет функционально-структурных изменений. На Белом море на литорали обычны растения, привыкшие к ежедневному подтоплению водой – *Acter tripolium* L., *Triglochin maritime* L., *Salicornia europeae* L., различные виды семейства *Plantaginaceae,* а также некоторые виды рода *Puccinelia* Parl., *Juncus* atrofuscus Loisel., *Zostera marina* L., *Ruppia* L. Для характеристики функционального состояния растений перспективными методическими подходами к изучению активности фотосинтетического аппарата являются методы, основанные на изучении флуоресценции хлорофилла *a* и анализ результатов CO_2 газообмена с использованием математических моделей фотосинтеза, учитывающих как физические, так и биохимические процессы, включающие активность рибулозобисфосфаткарбоксилазы/оксигеназы (РБФК/О), регенерации фонда РБФ, т.е. скорости электронного транспорта в ЭТЦ хлоропластов, скорости утилизации триозофосфатов и другие параметры.

Целью нашей работы явилось сравнительное изучение структурно-функциональных характеристик фотосинтетического аппарата трех облигатных галофитов: *Acter tripolium* L., *Triglochin maritime* L., *Salicornia europeae* L. произрастающих на литорали Белого моря. В задачу работы входило изучение функциональной активности фотосинтетического аппарата листьев, определение содержания пигментов и сравнительная оценка характеристик CO_2 газообмена с анализом активности отдельных звеньев реакции карбоксилирования.

Среди исследованных видов галофитов растения *Acter tripolium* L. отличались более высокой скоростью фотосинтеза по сравнению с *Triglochin maritime* L. и *Salicornia europeae* L. Такая же закономерность характерна и для процесса транспирации. Снижение фотосинтеза *Triglochin maritime* L. по сравнению с *Acter tripolium* L. могло быть связано с лимитированием процесса концентрацией CO_2 в межклеточном пространстве листьев в результате низкой проводимости устьиц. Значительно более низкие значения фотосинтетического и транспирационного газообмена растений *Salicornia europeae* L. обусловлены приуроченностью этих растений к условиям постоянного подтопления морской водой и могут быть связаны с низкими значениями проводимости устьиц потоку газов по сравнению с другими исследуемыми видами. Для *Acter tripolium* L. в диапазоне низких концентраций углекислоты в межклетниках листьев скорость фотосинтеза определялась активностью фермента - РБФК/О и только при более высоких концентрациях CO_2 (более 1200 мкмоль моль$^{-1}$) – скоростью регенерации РБФ. У растений *Salicornia europeae* L и. *Triglochin maritime* L лимитирующим фактором при концентрациях выше 400–500 мкмоль моль$^{-1}$ CO_2 становилась скорость регенерации РБФ. В результате, более низкая скорость ассимиляции CO_2 растений *Triglochin maritime* L. и *Salicornia europeae* L. может быть связана, наряду с активностью РБФК/О, с низкой скоростью регенерации рибулозобисфосфата. Высокие значения скорости фотосинтеза *Acter tripolium* L., в условиях заливания и на берегу обусловлены более эффективной работой световых реакций фотосинтетического аппарата, утилизации триозофосфатов по сравнению с *Salicornia europeae* L., а также меньшими затратами на дыхание по сравнению с *Triglochin maritime* L. Проведена оценка динамики активности световых процессов и темновых реакций фотосинтетического аппарата растений в условиях прилива-отлива.

ГИСТОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МОРФОГЕННОЙ СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЫ ГРЕЧИХИ ТАТАРСКОЙ

The histological analysis of morphogenic suspension cell culture of tartary buckwheat

Костюкова Ю.А.[1], Лебедева М.Д.[2], Гумерова Е.А.[1], Румянцева Н.И.[1]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук, Казань, Россия; j.kostyukova@mail.ru*

[2] *Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия; mery_lebedeva@mail.ru*

Гречиха татарская вызывает все больший интерес не только как крупяная культура, но и как продуцент биологически активных вторичных метаболитов. Особенностью вторичного метаболизма растений рода *Fagopyrum* является активный синтез фенольных соединений (ФС), представляющих ценность в первую очередь благодаря своим антиоксидантным свойствам. Многие из них повышают сопротивляемость организма к неблагоприятным воздействиям и имеют большие перспективы использования при лечении и предупреждении болезней человека. Биотехнологические подходы позволяют получить каллусные и суспензионные культуры, имеющие метаболизм, качественно и количественно сопоставимый с исходным растением. При этом более активный синтез и богатый состав ФС характерен для морфогенных клеточных культур по сравнению с неморфогенными культурами. Как правило, их отличает также намного более сложная и гетерогенная структура и, соответственно, способ воспроизведения. Морфогенная суспензионная культура гречихи татарской была инициирована из нодулярного каллуса гречихи, образованного проэмбриональными клеточными комплексами (ПЭКК) и клетками «мягкого» каллуса. Формирование новых ПЭКК в каллусе происходит циклично: они возникают из отдельных субповерхностных клеток предшествующих ПЭКК, в то время как остальная часть ПЭКК, разрыхляясь, образует «мягкий» каллус, или ткань-няньку. Полученная нами суспензионная культура по морфологии была похожа на исходную каллусную линию, сохраняла морфогенную активность, но отличалась более быстрым нарастанием биомассы (в 20 раз) за меньший период пассажа (2 недели), а также повышенным содержанием ФС (приблизительно в 5 раз). В связи с этим представляло интерес провести гистологический анализ полученной нами суспензионной культуры гречихи татарской. При пересадке суспензионную культуру разделяли с помощью системы сит на три фракции: 1) мелкую (с размером структур менее 0,75 мм), 2) среднюю (0,75-1,25 мм) и 3) крупную (более 1,25 мм). В качестве инокулята использовали среднюю фракцию. Гистологический анализ каждой фракции суспензионной культуры проводили в конце пассажа (14-е сутки).

Мелкую фракцию составляют ПЭКК и глобулярные эмбриоподобные структуры (ЭПС). Мелкие, округлые ПЭКК – это структуры, образованные главным образом меристематическими клетками, а также несколькими слоями поверхностных клеток, в вакуолях которых накапливаются фенольные соединения (ФС). В более крупных по размеру ПЭКК можно выделить еще область паренхимных клеток, накапливающих крахмал. ЭПС по форме и структуре близки к мелким ПЭКК, они образованы меристемоподобными клетками, но не имеют на поверхности клеток, накапливающих ФС в вакуоли. Поверхность ЭПС образована клетками, которые по строению близки к протодермальным. Средняя фракция суспензии представлена разрыхляющимися ПЭКК, кластерами глобулярных ЭПС. Разрыхление ПЭКК, так же как и в нодулярном каллусе гречихи, сопровождается формированием удлиненных паренхимных клеток в центральной части ПЭКК. Дальнейшее разрыхление ПЭКК приводит к обособлению новых ПЭКК или ЭПС – одиночных или объединенных в кластеры. Образование новых ЭПС может происходить двумя путями: либо из субповерхностных меристематических клеток ПЭКК, либо из протодермальных клеток предсуществующих ЭПС. Вновь сформированные ЭПС не связаны с родительским ЭПС прокамбиальными тяжами. Также как и отдельные глобулярные ЭПС мелкой фракции, кластеры ЭПС суспензионной культуры гречихи средней фракции образованы меристематическими клетками и имеют на поверхности протодермо-подобные клетки. Крупная фракция суспензионной культуры гречихи отличалась морфологическим разнообразием. Выделены белые структуры неправильной формы, образованные разрыхляющимися ПЭКК с формирующимися на них ЭПС, а также палочкообразные коричневые структуры, вероятно аномально развивающиеся корни, и ЭПС, морфологически напоминающие аномальные соматические зародыши. Коричневый цвет большинства ЭПС обусловлен присутствием многочисленных фенольных соединений на тонопласте паренхимных клеток.

Морфологическое разнообразие клеточных структур морфогенной суспензионной культуры гречихи к завершению пассажа может быть обусловлено, с одной стороны, процессами новообразования ПЭКК, которые аналогичны процессам, происходящим в каллусе. С другой стороны, более быстрое снижение в жидкой среде уровня 2,4-Д по сравнению с агаризованной средой приводит к снятию ингибирующего дифференцировку эффект. Поэтому значительная часть структур в суспензионной культуре представлена зародышеподобными структурами с дифференцирующейся протодермой.

СТИМУЛЯЦИЯ РОСТОВЫХ ПРОЦЕССОВ У МИКРОРАСТЕНИЙ *SOLANUM TUBEROSUM* L.

Stimulation of growth processes in micro plants of *Solanum tuberosum* L.

Котова З.П., Парфенова Н.В., Камова А.И.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Карельская государственная сельскохозяйственная опытная станция», п. Новая Вилга, Республики Карелия, Россия
zinaida_kotova@mail.ru

Оздоровленный семенной материал картофеля можно получать разными методами, но наиболее гарантированное качество обеспечивается микроклональным размножением *in vitro* с использованием биотехнологических методов. Постоянно ведется поиск приемов, позволяющих уменьшить материальные затраты при получении посадочного материала, как путем оптимизации питательных сред, так и воздействием на микрорастения полифункциональными физиологически активными препаратами, кратковременным воздействием низких положительных температур или их комплексному воздействию для лучшей адаптации в условиях *ex vivo* и получению большего количества семенного материала. Применение различных приемов стимулирования ростовых процессов на ранних этапах онтогенеза растений предпринято для оптимизации элементов технологии оригинального семеноводства картофеля на основе микроклонального размножения пробирочных растений.

Объектом исследования являются оздоровленные меристемные растения картофеля 4-х сортов с различными сроками созревания: ранние (с. Impala и Холмогорский) и среднеранние (с. Red Skarlet и Рябинушка). Общепринятой средой для выращивания пробирочных растений являлась среда по Мурасиге-Скуга. Пробирочные растения экспонировались в течение 2-4 ч в растворах следующих препаратов: эпина (0,4%), этихола (10^{-5}%) и экстрасола (1%). Часть растений подвергали воздействию кратковременных низкотемпературных обработок (DROP): в течение 5 сут их перемещали в конце ночи из оптимальных температурных условий (20-22ºС, на 2 часа в холодильник (4ºС). В варианте опыта DROP с обработкой этихолом растения выдерживали при DROP-воздействии, а затем экспонировали в растворе этихола 4 ч. Микрорастения после проведения обработок немедленно высаживали в торфяной грунт в минипарники. Растения выращивали в оптимальных условиях, рекомендуемых для практического растениеводства (Ващенко, 1974): температуре воздуха день/ночь +23/18°С, относительной влажности воздуха 40-65 %, освещенностью 10-12 клк и фотопериоде 16 часов. Оптимальные условия, создаваемые в период развития растений, позволили получить растительный материал за 25-30 дней. Укоренившиеся растения высаживали вручную в пластиковые горшки объемом 5 л в торфяной субстрат (pH-5,7) в условия изоляции.

Трехлетние исследования показали, что лучшая приживаемость укорененных микрорастений отмечена при их обработке препаратами этихол и экстрасол (89,1-89,2%, соответственно). Эти препараты положительно влияли на морфогенез и ризогенез растений картофеля в условиях *ex vivo*, увеличивая приживаемость растений, высаженных в грунт, ускоряя их рост и развитие. Действие этихола усиливалось при холодовом воздействии, что свидетельствует о стресспротекторной активности препарата. Наиболее отзывчивыми на стимуляцию этихолом были с. Рябинушка (96%) и Холмогорский (94%). Наименьшее количество прижившихся микрорастений отмечено при DROP-воздействии и обработке эпином (81,9% и 82,9%, соответственно).

При выращивании семенного материала наиболее важным показателем является образовавшееся число клубней с одного растения. Полученные в течение трех лет данные показали, что по формированию урожая реакция потомства из микрорастений на приемы стимулирования различна. В частности, тенденция к превышению контрольных показателей коэффициента размножения выявлена в варианте с обработкой микрорастений экстрасолом и совместное применение DROP-воздействия с обработкой этихолом. При этом следует отметить, что значительное повышение приживаемости растений в этом варианте позволяет с единицы площади получить достоверно большее число миниклубней. Было выявлено, что сортовые особенности оказывают значительное влияние на способность сортов формировать миниклубни в условиях изоляции. Наиболее отзывчивыми на обработку этихолом показали себя ранние сорта (10,8 штук).

Необходимо отметить, что предварительная холодовая обработка (DROP-воздействие) микрорастений положительно влияла и на увеличение массы полученных миниклубней: на 30,4% по сравнению с контрольным вариантом (23,6 г и 18 г, соответственно). В разрезе сортов разница в массе куста более значительна. В среднем за три года выделился ранний сорт Холмогорский, масса клубней с куста которого составил 354,6 г, что выше контроля (обработка эпином) на 13,6%.

Таким образом, исследования показали эффективность дополнительного стимулирования ростовых процессов у микрорастений перед высадкой в грунт, обеспечивая значительный прирост получаемых миниклубней и в случае применения этихола, и при совместном применении DROP-воздействия с этихолом, которое позволяет увеличивать коэффициент выращиваемого семенного материала.

ОСОБЕННОСТИ ОБРАЗОВАНИЯ ТРИТЕРПЕНОВЫХ ГЛИКОЗИДОВ В КУЛЬТИВИРУЕМЫХ *IN VITRO* КЛЕТКАХ РАСТЕНИЙ (НА ПРИМЕРЕ *PANAX* SPP.)

Triterpene glycosides in plant cell cultures of *Panax* spp.

Кочкин Д.В., Носов А.М.

Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия; dmitry-kochkin@mail.ru

В настоящее время достигнуты немалые успехи в изучении тритерпеновых гликозидов в культурах клеток растений *in vitro*: показана возможность образования основных групп тритерпеновых гликозидов, выяснены некоторые особенности их качественного и количественного состава. При этом установлено, что часто культивируемые *in vitro* клетки растений характеризуются специфичным, не характерным для интактных растений составом тритерпеновых гликозидов. Обусловлено это, по всей видимости, спецификой культуры клеток растений, как особой биологической системы.

Культура клеток высших растений является экспериментально созданной популяцией соматических клеток, основным критерием отбора в которой является интенсивная пролиферативная активность клеток. Указанное обстоятельство, по всей видимости, накладывает весьма жесткие ограничения на качественные и количественные характеристики содержания тритерпеновых гликозидов в культурах клеток высших растений. В данной работе на основании анализа литературы и собственных результатов проводится обсуждение особенностей образования и накопления тритерпеновых гликозидов женьшеня (гинзенозидов) в культивируемых клетках различных видов рода *Panax*. При этом можно заключить, что их синтез и накопление часто являются нестабильными и определяются в первую очередь такими факторами как условия культивирования (гормональный состав сред, наличие различных специфичных и/или неспецифичных стресс-факторов и т.д.) и опосредованно зависят от эпигенетического состояния популяции (стадия роста культуры, цитодифференцировка). Однако для различных групп гинзенозидов закономерности образования в условиях культуры клеток *in vitro*, видимо, не одинаковы. Например, часто отмечающееся в культивируемых клетках различных видов женьшеня превалирование гинзенозидов Rg-группы (агликон – протопанаксатриол) свидетельствует о том, что их образование не приводит к существенному нарушению нормального метаболизма клеток в условиях стерильной культуры. С другой стороны, низкая и часто нестабильная интенсивность образования нейтральных гинзенозидов Rb-группы (агликон – протопанаксадиол), возможно, является следствием высокой токсичности этих соединений для активно пролиферирующих клеток *in vitro*. Поэтому, вероятно, для активного накопления гинзенозидов Rb-группы в условиях культуры клеток необходима дополнительная модификация их структуры (образование кислых эфиров с малоновой кислотой), которая наблюдается в культурах клеток некоторых видов женьшеня.

ВЛИЯНИЕ ФОТОПЕРИОДА НА МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ И ЭЛЕМЕНТЫ ПРОДУКТИВНОСТИ ИЗОГЕННЫХ ЛИНИЙ ПШЕНИЦЫ, РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ ПО ОСТИСТОСТИ И ОКРАСКЕ КОЛОСА И ИМЕЮЩИХ ДОМИНАНТНУЮ АЛЛЕЛЬ ГЕНА PPD D1a

Influence of photoperiod on morphologic and physiologic features and productivity elements in isogenic lines of spring soft wheat differing in color and spinous ear and having the dominant allele of gene Ppd D1a

Кошкин В.А., Матвиенко И.И.

Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства им. Н. И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия, koshkin-va@mail.ru

Известно, что основной контроль продолжительности периода всходы-колошение у пшеницы осуществляют генетические системы локусов Vrn (реакция на яровизацию) и Ppd (чувствительность к фотопериоду). Слабую фотопериодическую чувствительность (ФПЧ) контролируют доминантные аллели генов Ppd. Генетическое манипулирование системами генов, определяющими скорость развития, позволит создавать сорта с заданной продолжительностью вегетации. Исследования проводили в 2007-2013 гг. в вегетационных и фотопериодических павильонах Пушкинского филиала ВИР. Изучали родительские формы: Ленинградка (с сильной ФПЧ), Salamanca S 75 (со слабой ФПЧ) и полученные нами методом принудительной гетерозиготности изогенные линии (ИГЛ), отличающиеся по остистости и окраске колоса (и-496716, и-496717, и-496718) и обладающие слабой ФПЧ. Молекулярный анализ показал, что у них присутствует доминантная аллель гена Ppd D1. В вегетационном опыте растения выращивали на дерново-подзолистой почве в пластиковых 5 л вегетационных сосудах в условиях длинного естественного (17 ч 30 мин - 18 ч 52 мин) и короткого (12 ч) фотопериода. Линии также были изучены в полевых условиях. В процессе структурного анализа растений определяли высоту главного стебля, колосонесущего междоузлия, влагалища флагового листа и элементы продуктивности. Кроме этих показателей в полевых условиях определяли относительное содержание хлорофилла хлорофиллометром FIELD SCOUT CM 1000TM.

Установлено, что изогенные линии, отличающиеся по остистости и окраске колоса и обладающие слабой ФПЧ, были достоверно более скороспелыми по сравнению с сильно чувствительным исходным родительским с. Ленинградка не только при коротком 12 ч дне, но и при длинном естественном дне. Используя эти линии, можно селекционным способом ускорять онтогенез растений пшеницы.

Родительские формы достоверно различались по морфологическим признакам: длине главного стебля, колосонесущего междоузлия, влагалища и площади флагового листа как в условиях длинного (ДД), так и короткого (КД) фотопериода. Наибольшей длиной главного побега и влагалища флагового листа обладала материнская форма Ленинградка. Короткостебельные ИГЛ (и-496716, и-496717, и-496718) по длине главного стебля приближались к отцовской форме, а по длине влагалища флагового листа и относительному содержанию хлорофилла занимали промежуточное положение между родительскими формами. Наибольшее содержание хлорофилла у всех линий наблюдали в фазе колошения. Следует отметить, что все изученные ИГЛ достоверно превосходили по площади флагового листа материнскую, а по длине влагалища - отцовскую форму, что содействовало повышению фотосинтетической продуктивности ИГЛ. Эти линии превосходили по продуктивности скороспелый слабо чувствительный к фотопериоду сорт-стандарт Фотон.

В условиях ДД внутри каждой группы ИГЛ (и-496716, и-496717, и-496718) отмечены близкие значения по всем изученным показателям. Лишь по массе 1000 зерен выявлена тенденция увеличения у остистых линий по сравнению с безостыми, и наоборот, уменьшения числа зерен и массы зерна колоса главного стебля. Окраска колоса у всех изученных ИГЛ не играла существенной роли в скороспелости и продуктивности растений. Все линии существенно не отличались по длине главного колоса и длине влагалища флагового листа главного стебля. Необходимо отметить, что длина влагалища флагового листа наиболее консервативный признак, на который не влияет фотопериод. По массе 1000 зерен ИГЛ занимали промежуточное положение между родительскими формами.

В условиях КД сорт-стандарт Фотон (st), отцовская форма Salamanca S 75 и ИГЛ (и-496716, и-496717, и-496718) сохранили высокие значения элементов продуктивности, так как имеют доминантные аллели гена Ppd D1 и обладают слабой ФПЧ. Материнская, сильно чувствительная к фотопериоду форма Ленинградка имела самые низкие значения числа зерен, массы зерна и массы 1000 зерен колоса главного побега, массы растения и Кхоз. Это можно объяснить тем, что она имеет рецессивную аллель гена ppd D1, сильно задерживает свое развитие на неблагоприятном фотопериоде и формирует щуплое зерно.

Таким образом, при подборе исходного материала для селекции на скороспелость без снижения продуктивности необходимо учитывать не только хозяйственные признаки, но и морфофизилогические и генетические показатели сортов, обладающих слабой ФПЧ и скороспелостью. В условиях глобальных и локальных природно-климатических и антропогенных воздействий, созданные нами ИГЛ будут стабильно сохранять свои характеристики в различных регионах России.

ПРОДУКТИВНОСТЬ И СТРУКТУРА УРОЖАЯ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА *BRASSICACEAE* НА ЗАГРЯЗНЕННОЙ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ПОЧВЕ

Yield and yield components of *Brassicaceae* species on sub-podzolic soils, contaminated with heavy metals

Кошкин Е.И., Шведова А.Н.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение профессионального образования Российский государственный аграрный университет – Московская сельскохозяйственная академия им. К.А.Тимирязева, Москва, Россия; borygar@timacad.ru

Загрязнение почв тяжелыми металлами (ТМ) представляет серьезную экологическую проблему, одновременно оказывая негативное влияние на продуктивность и качество урожая полевых культур. В последние годы растет интерес к проблеме фиторемедиации, направленной на очистку почв от ТМ с помощью самих же растений. Перспективными для этих целей могут оказаться наряду с рапсом (Кошкин, Андреева, Вагун, 2010; Кошкин, Андреева, Белопухов, 2014) горчица, сурепица, редька, поскольку относятся к семейству *Brassicaceae,* насчитывающему наибольшее количество видов природных металлофитов. Одновременно с выносом ТМ вегетативной массой, масло из семян указанных культур при условии его чистоты может использоваться в качестве биотоплива.

Объектами сравнительных исследований служили яровые формы рапса (сорт Подмосковный), горчицы белой (с. Луговской), сурепицы (с. Светлана) и редьки масличной (с. Снежана), выращиваемые в сосудах с дерново-подзолистой почвой (4,5 кг абс.сухой почвы на сосуд) при моноэлементном загрязнении тяжелыми металлами (Zn – 600, Cd - 20 и 24, Pb - 550 и 700 мг/кг почвы), которые вносились в почву в виде растворов солей соответственно $ZnSO_4$, $CdCl_2$ и $Pb(CH_3COO)_2$ за 3-5 сут до посева. Биометрические параметры определяли в фазе цветения, а семенную продуктивность, структуру урожая, содержание ТМ по органам - в фазе хозяйственной спелости.

На семенную продуктивность влияют масса 1000 семян и количество семян с растения, из которых первый показатель у изучаемых видов, за исключением сурепицы, оказался наименее изменчивым. В контроль количества семян с растения вовлечены как число стручков, так и число семян в стручке при ведущей роли числа стручков. По числу семян в стручке наиболее стабильные значения при действии максимальной дозы ТМ обнаружила редька масличная. Цинк в сравнении с другими ТМ оказывал наибольшее отрицательное влияние на семенную продуктивность, структуру урожая и накопление вегетативной массы у представленных видов. Это проявилось особенно отчетливо по коэффициенту хозяйственной эффективности (Кхоз), характеризующему долю семян в сухой надземной биомассе. Кхоз снизился во всех вариантах опыта в сравнении с контролем (без внесения ТМ), но наиболее сильно у рапса, горчицы и редьки масличной за счет более резкого уменьшения семенной продуктивности в сравнении с вегетативной массой растения. Таким образом изменения семенной продуктивности и параметров структуры урожая в опыте носят металло- и видоспецифичный характер. Анализ содержания ТМ в органах растений с целью расчета коэффициента выноса отдельных элементов и качества масла продолжается.

ВЛИЯНИЕ ГУМИНОВОГО ПРЕПАРАТА НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ, УРОЖАЙНОСТЬ И КАЧЕСТВО ЯРОВЫХ ЗЕРНОВЫХ

Effect of humic substances on the photosynthesis, yield and quality of spring cereals

Кравец А.В.[1], Зотикова А.П.[2]

[1] *Федеральное бюджетное государственное научное учреждение Сибирский НИИ сельского хозяйства и торфа, Томск, Россия; kravets@sibmail.com*

[2] *Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия; zotik.05@mail.ru*

Гуминовые вещества обладают свойствами адаптогенов, повышают сопротивляемость сельскохозяйственных культур к неблагоприятным почвенно-климатическим условиям и болезням. Это особенно важно в условиях Западной Сибири, для которой характерны короткий вегетационный период, поздняя весна, недостаток или избыток влаги. При недостатке кальция увеличивается проницаемость мембран и нарушается их целостность, у делящихся клеток не образуются клеточные стенки. Недостаток кальция вызывает прекращение образования боковых корней и корневых волосков.

Исследовали гуминовый препарат из торфа с кальцием (патент РФ № 2514659). Полевой опыт проводили на серой лесной почве полевого стационара СибНИИСХиТ Лучаново на яровой пшенице *Triticum aestivum* Host. сорта Иргина и яровом ячмене *Hordeum vulgare* L. сорта Ача на минеральном фоне (мочевина N45) по методике Б.А. Доспехова. Почва опытного участка имела следующие показатели: pHсол. 4,88, гидролитическая кислотность 7,59 мг-экв/100г сухой почвы, гумус 5,7%. Схема полевого опыта: 1. Контроль – без обработки; 2. Предпосевная обработка семян гуминовым препаратом с кальцием с концентрацией 0,01% (10 л/т семян). Закладка полевых опытов проведена в 3-кратной повторности. Содержание пигментов определяли в спиртовой вытяжке спектрофотометрическим методом. Определение качества зерна проводили с помощью инфракрасного спектрофотометра Инфралюм ФТ-10.

Влияние препарата неоднозначно для разных зерновых. Так, на полевую всхожесть ярового ячменя препарат не повлиял (68,8-69,6%), а всхожесть яровой пшеницы увеличилась на 2,5% (с 56,6% в контроле до 59,1% в опытном варианте). Далее учитывали динамику количества листьев, площади листьев, сухой массы растений, чистой продуктивности фотосинтеза по фазам вегетации.

Динамика нарастания площади листовой поверхности показывает стимулирующее влияние гуминового препарата на листовой аппарат. В различные фазы развития фотосинтезирующая поверхность увеличилась в опытных вариантах на 10-51%. Выявлена положительная динамика нарастания сухой массы по фазам вегетации. Измерения чистой продуктивности фотосинтеза показали, что в фазу кущения ЧПФ пшеницы в опытном варианте превышает показатель контрольного варианта 9,76 г/м^2 сут и составляет 10,38 г/м^2 сут, ЧПФ ячменя в контроле 3,56 г/м^2 сут, в опыте 4,7 г/м^2 сут. Биометрические показатели также свидетельствуют о положительном влиянии стимулятора. В фазу цветения пшеницы в опытных вариантах увеличилась сухая масса растений в 2,6 раза, количество и площадь листьев в 2 раза. Измерения растений ячменя в фазу выметывания выявили увеличение площади листьев на 42%, сухой массы растений - на 24%. Обработка семян гуминовым препаратом с кальцием повысила содержание суммы хлорофиллов и каротиноидов и у пшеницы, и у ячменя на 15-23%. Увеличение выше перечисленных показателей привело к увеличению урожайности. Масса 1000 зерен пшеницы достоверно увеличилось в опытном варианте до 33,97 г (в контроле 32,75 г). Урожайность пшеницы в варианте с обработкой семян достоверно выше контрольного на 13% (контроль – 28 ц/га). Урожайность ячменя также увеличилась, но менее значительно, только на 7% (в контроле 45,4 ц/га). Проведенные исследования по определению качества полученного зерна пшеницы показали, что зерно в варианте с обработкой гуминовым препаратом с кальцием имело достоверно более высокие показатели по содержанию белка и клейковины. Содержание белка повысилось на 1% (в контроле 15,3%), содержание клейковины на 2,3% (в контроле 29,5%). Содержание сырого протеина в зерне ячменя увеличилось еще более значительно - с 11,8 до 13%. Улучшение качества зерна и увеличение урожайности позволило увеличить сбор белка с га у пшеницы на 21% (в контроле 613,4 кг/га, в опыте 739,3 кг/га), а у ячменя на 18% (в контроле сбор белка 535,7 кг/га, в опыте 631,8 кг/га).

Таким образом, предпосевная обработка семян гуминовым препаратом с кальцием увеличивает фотосинтетическую поверхность растений, сухую массу растений, количество фотосинтетических пигментов, чистую продуктивность фотосинтеза. Повышает массу 1000 зерен, урожайность, содержание белка и клейковины в зерне яровой пшеницы и протеина в зерне ярового ячменя. Такой технический прием оправдан и целесообразен для применения в практике сельского хозяйства.

АДАПТАЦИЯ ДРЕВОСТОЕВ ЕЛИ ОБЫКНОВЕННОЙ (*PICEA ABIES (L.)KARST*) РАЗЛИЧНОГО ГЕОГРАФИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ В УСЛОВИЯХ РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН

Adaptation of Norway spruce (*Picea abies (L.) Karst*) stands of different geographic origin in Tatarstan

Краснобаева С.Ю.

Филиал ФБУ Всероссийский НИИ лесоводства и механизации лесного хозяйства «Восточно-европейская лесная опытная станция», Казань, Республика Татарстан, Россия; Krasnobaeva2003@mail.ru

В подзоне хвойно-широколиственных лесов, на территории Республики Татарстан (РТ), ель обыкновенная *(Picea abies* (L.) Karst.) произрастает в крайних условиях – на южной границе своего ареала. В этих условиях вид становится более избирательным к локальным условиям обитания и чувствительным к изменениям климатических факторов. Ограничивают прирост и распространение ели летние засухи, особенно повторяющиеся несколько лет подряд. Жестокие засухи в РТ в 1891, 1906, 1911, 1920-1921, 1934, 1949, 1955-1956 гг. были основной причиной массового отмирания еловых древостоев. Ослабленные засухой ельники поражались короедом и опенком и происходило их катастрофическое отмирание. Для выявления наиболее адаптированных к локальным климатическим условиям таксонов, форм и особей древесных растений создаются и изучаются географические лесные культуры (ГК) основных лесообразующих пород: ели, сосны, лиственницы, пихты, дуба. Так, на территории РТ находятся 2 объекта ГК ели обыкновенной. Опытный объект ($ГКЕ_{77}$) заложен в 1977 г. на Татарской лесной опытной станции в кв. 61 Арского (в настоящее время Тукайского) лесничества. Тип леса – ельник липовый, ТЛУ-$С_2$, рельеф ровный, почва светло-серая, лесная тяжелосуглинистая. На площади 18 га представлено 24 климатипа (климатических экотипа) ели обыкновенной в трех повторностях из 29 лесхозов РФ. Каждый климатип занимает площадь 0,20 га (50 х 40 м), на которой заложено 16 рядов культур. Опытно-производственный объект ($ГКЕ_{67}$) создан сотрудниками Татарской Зональной лесосеменной станции в 1967 г. Культуры заложены по вырубке 1966 г. на площади 4,2 га в кв. № 5 Зеленодольского лесничества. Тип леса - ельник кисличниковый, ТЛУ-$С_2$, рельеф ровный, почва свежая, супесчаная. Участок разделен на 20 клеток-блоков, в которых представлены 17 климатипов ели обыкновенной. Объект не имеет самостоятельного научного значения, поскольку культуры заложены в одной повторности, но благодаря наличию 9 общих с $ГКЕ_{77}$ климатипов (ленинградского, псковского, литовского, коми, калининского, новгородского, татарского, удмуртского, пермского) может рассматриваться как его экологическая повторность. Результаты комплексного многолетнего исследования культур под руководством Заслуженного лесовода РФ и РТ К.В. Краснобаевой на разных возрастных этапах (15, 25, 35 лет), совмещенные с интенсивными (50%) рубками ухода, позволили определить относительно лучшие и худшие по росту и адаптации к региональным климатическим условиям климатипы ели, предварительно определить их таксономическую структуру и рекомендовать для лесоразведения в регионе. На объекте $ГКЕ_{77}$ было выявлено 17 относительно лучших по сохранности, 10 обладающих сравнительно хорошими характеристиками роста, и 14 относительно хорошо адаптированных к местным климатическим условиям. На объекте $ГКЕ_{67}$ из 17 климатипов к относительно лучшим по общему состоянию, продуктивности, росту и адаптации отнесены древостои 7 происхождений: эстонский, латвийский, новгородский, ленинградский, псковский, коми, литовский. Экстремальная засуха весны-лета 2010 г. явилась причиной очередной гибели ельников в РТ, с одной стороны, и фактором отбора и уточнения предварительно выделенных лучших климатипов, с другой. Перечет деревьев по категориям санитарного состояния показал, что на объекте $ГКЕ_{67}$ количество сухостойных деревьев в среднем составляет 17-20%, а сильно ослабленных – 5-7%. Благодаря расположению в глубине лесного массива объект практически не пострадал от засухи. В то же время, на объекте $ГКЕ_{77}$ были обнаружены крупные очаги усыхания, особенно по южной, восточной и западной границам объекта, поражение стволовыми вредителями. Количество сухостойных деревьев на объекте зависит от происхождения климатипа и его расположения. По результатам обследования 2014 г. из числа предварительно выделенных относительно лучших нами были исключены древостои львовского, прикарпатского, новгородского, коми, калужского, свердловского и пермского климатипов, поскольку содержание сухостойных деревьев в этих блоках составило 50-80%. При создании культур $ГКЕ_{77}$ большинство климатипов было представлено в трех повторностях, поэтому объект не потерял своего научного значения. По-прежнему лучшими по сохранности и санитарному состоянию остаются древостои архангельского, ленинградского и псковского климатипов, в междурядьях которых имеется благонадежный подрост ели куртинного характера. Чем больше генетическое разнообразие популяции, тем выше вероятность отбора наиболее приспособленных к данным условиям генотипов. В связи с этим имеющийся в междурядьях лучших климатипов молодняк и самосев ели представляет собой генетически улучшенный посадочный материал. Для того чтобы рекомендовать лучшие климатипы в качестве сортов-популяций необходимо уточнить их таксономическую структуру в период массового плодоношения, а для определения нормативов содержания и использования гибридного потомства 2-го поколения - охарактеризовать его с использованием методов биохимической генетики и физиологии, что будет являться предметом наших дальнейших исследований.

ФИТОХРОМНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

Phytochrome regulation of photosynthetic processes

Креславский В.Д., Ширшикова Г.Н., Худякова А.Ю., Шмарев А.Н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук, Пущино, Россия; vkreslav@rambler.ru

Одним из ключевых актуальных для физиологии растений вопросов является роль фоторецепторов фитохромов в регуляции активности фотосинтетического аппарата (ФА) в различных условиях внешней среды, в частности, в стрессовых условиях. Так было изучено, как влияет изменение содержания фитохрома В (ФхВ) на фотосинтез в трансгенных растениях картофеля (*Solanum tuberosum* L.) Дара-12 и Дара-5, суперпродуцентах ФхВ, при действии УФ-В и света высокой интенсивности. Нами также было изучено влияние дефицита фитохромов на фотосинтез, содержание фотосинтетических пигментов и фотохимическую активность ФА у 23-30 дн. растений *Arabidopsis thaliana* в нормальных и стрессовых условиях. Были использованы мутант арабидопсиса *hy2,* дефицитный по всем 5 типам фитохромов (A, B, C, D, E), мутант *hy3*, дефицитный по апобелку ФхВ, и мутант, дефицитный по фитохромам А и В одновременно. У всех мутантов был удлиненный гипокотиль и более мелкие и бледные листья по сравнению с диким типом (ДТ). Флуоресцентные показатели, такие как максимальный квантовый выход флуоресценции F_v/F_m и квантовый выход флуоресценции при световом насыщении Y(II) и скорость электронного транспорта (ETR), мало отличались у мутантов по сравнению с ДТ, тогда как величина нефотохимического тушения (NPQ) была несколько выше у мутантов. С другой стороны, содержание фотосинтетических (Хл *a*, Хл *b*, каротиноиды) и УФ-поглощающих (преимущественно флавоноиды) пигментов в расчете на 1 г сырого веса было ниже у мутантов на 15-25%. Облучение растений УФ-А или УФ-Б приводило к большему снижению скорости фотосинтеза (P_n) и фотохимической активности ФА у всех мутантов по сравнению с ДТ, а также к более быстрой деградации Хл *a* и *b*. Аналогичные эффекты наблюдали при действии света высокой интенсивности.

Предоблучение растений красным светом (КС) (1-2 Вт $м^{-2}$, 10 мин), индуцирующее увеличение активной формы фитохрома В (ФхВ), приводило к заметному снятию ингибирующего эффекта УФ-радиации на активность ФА только у ДТ, но не у мутантов, что согласуется с низким содержанием ФхВ у мутантов и их низкой чувствительностью к КС. Наоборот, ФА трансгенных растений картофеля Дара-12 и Дара-5 был более устойчив к УФ-В (1) и к фотоингибированию (2), чем ФА нетрансформированных растений. Из наших данных следует, что дефицит фитохромов, включая ФхВ, который наиболее критичен, приводит к понижению содержания УФ-поглощающих пигментов и каротиноидов, а также к снижению устойчивости ФА арабидопсиса к УФ-радиации и активности ряда ключевых ферментов антиоксидантной защиты. Это сдвигает баланс оксидантов и антиоксидантов в сторону оксидантов и согласуется с понижением устойчивости ФС2 и ФА в целом к УФ-радиации и повышением содержания H_2O_2 в листьях. Активность ферментов антиоксидантной защиты, таких как аскорбатпероксидаза (АсП) в листьях ДТ была выше, чем у *hy2* более чем в 2 раза и выше, чем у *hy3* на 15-20%. Кратковременное облучение КС приводило к более заметному увеличению активности АсП, а также фенилаланин-аммоний-лиазы (ФАЛ) у ДТ по сравнению с мутантами *hy2* и *hy3.*

Было проведено сравнение уровней экспрессии генов ряда антиоксидантных ферментов (APX1, tAPX, sAPX, CHS) и фотосинтетических белков (CAB1, D1) до и после облучений. Освещение ДТ одним только КС (10 мин) и последующее выдерживание в темноте в течение 1 ч увеличивало транскрипционную активность генов антиоксидантной защиты, кодирующих цитозольную (APX1) и тилакоидную (tAPX) аскорбатпероксидазы, а также гена *ФхВ*. У мутанта *hy3* КС увеличивал уровень транскрипции генов *APX1* и *sAPX*. При этом у мутанта *hy2* активности всех исследованных генов либо снижались (гены *sAPX*, *tAPX* и *CHS*), либо не возрастали, что согласуется с меньшим повышением активности АсП у мутанта *hy2* по сравнению с ДТ. Облучение КС без выдерживания в темноте не влияло на активность генов. Действие УФ-радиации также изменяло уровень транскрипционной активности генов *APX1*, *sAPX*, *tAPX* и *CHS*, но эти изменения заметно не отличались у мутантов и ДТ.

Таким образом, содержание фитохромов регулирует устойчивость ФА к окислительному стрессу (УФ-радиация и свет высокой интенсивности) за счет регуляции содержания фотосинтетических и УФ-поглощающих пигментов листа и активности некоторых ферментов антиоксидантной защиты. Повышение содержания активной формы ФхВ за счет облучения растений КС низкой интенсивности может повышать устойчивость ФА путем увеличения активности некоторых генов ферментов антиоксидантной защиты, таких как *APX1* и *tAPX*.

Работа была поддержана грантами РФФИ №15-04-01199а и № 14-04-31812мол_а.

ЦИТО-ГИСТОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВОЗДЕЙСТВИЯ ПЭГ 6000 КАК ИМИТАТОРА ЗАСУХИ НА ОРГАНЫ СФОРМИРОВАННОГО ЗАРОДЫША ПШЕНИЦЫ В МОДЕЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

Cyto-histological analysis of the effect of PEG 6000 as a drought simulator on the formed wheat embryo organs in the model *in vitro* conditions

Круглова Н.Н., Зинатуллина А.Е.

ФГБУН Уфимский Институт биологии РАН, Уфа, Россия; kruglova@anrb.ru

Повышение эффективности и рентабельности использования основной хлебной культуры – яровой мягкой пшеницы как биологического ресурса во многом базируется на реализации адаптивного потенциала растений. Биотехнологический метод эмбриокультуры в селективных условиях *in vitro* позволяет выявить особенности адаптации к неблагоприятным стрессовым факторам не только зародыша, но и растения в целом, поскольку зародыш обладает всеми потенциями взрослого организма. Основной неблагоприятный климатический фактор на Южном Урале Засуха – засуха. Перед селекционерами остро стоит проблема создания новых засухоустойчивых сортов яровой мягкой пшеницы, перспективных для районирования на Южном Урале в условиях глобального потепления. В качестве имитатора засухи в биотехнологических исследованиях) используется в том числе полиэтиленгликоль молекулярной массой 6000 Да (ПЭГ 6000), понижающий осмотический потенциал питательной среды, но не проникающий в растительные клетки). Цель исследования – выявить клеточные и тканевые особенности воздействия имитатора засухи осмотика полиэтиленгликоль ПЭГ (М.в. 6000 Да) на изолированные зародыши пшеницы, инокулированные на селективные питательные среды в модельные условия культуры *in vitro*. Объектами исследования послужил ряд гибридных комбинаций яровой мягкой пшеницы (Боевчанка х Ирень, Л42938 х Салават Юлаев, Дуэт х Башкирская 28, Э43018 х Тулайковская золотистая, Л42809 х Л42866, Л42875 х Экада 70, Башкирская 26 х Экада 70, Л42875 х 76/98а, Воронежская 16 х Л42833, Боевчанка х Башкирская 26), активно используемых в генетико-селекционных программах Селекционного центра по растениеводству Башкирского НИИ сельского хозяйства РАСХН (г. Уфа) в качестве перспективных в климатической зоне Южного Урала. Семена для исследований получены согласно Договору о творческом сотрудничестве (2012-2015 гг.). Растения выращивали на экспериментальных участках научного стационара Института биологии Уфимского НЦ РАН (Уфимский район) в 2013-2014 гг. Использовали метод эмбриокультуры *in vitro* пшеницы, методы светооптических и просвечивающих электронно-микроскопических исследований. Предварительно экспериментально, по способности зародышей, изолированных на последовательных стадиях эмбриогенеза, завершить эмбриогенез и дать нормальные проростки в условиях *in vitro* на простой безгормональной среде (методический прием предложен Т.Б. Батыгиной, 1987), выявили критическую стадию автономности зародыша изучаемых гибридных комбинаций пшеницы, соответствующую стадии сформированного зародыша, согласно предложенной нами периодизации эмбриогенеза пшеницы (Круглова, 2009). Согласно цито-гистологическим данным, сформированный зародыш в стадии автономности (17-20 сут после опыления, длина 2,1-2,2 мм) характеризуется наличием всех типичных для зародышей злаков органов: щиток (семядоля), лигула (вырост щитка), колеоптиль, эпибласт, колеориза, дифференцированная почечка, состоящая из апекса побега и первого листа. Имитацию дефицита влаги моделировали путем введения в состав питательной среды Murashige, Skoog (1962) осмотика ПЭГ 6000 в концентрациях 5, 10, 15, 20 и 25% (по: Kovacs *et al.*, 2010). Культивирование зародышей *in vitro* проводили в течение 1-7 сут. Установлено, что концентрация ПЭГ 6000 именно в 25,0% приводила к существенному ингибированию развития и постепенной деградации зародышей ряда гибридных комбинаций: Боевчанка х Ирень, Дуэт х Башкирская 28, Л42809 х Л42866, Воронежская 16 х Л42833, Боевчанка х Башкирская 26. Экспериментально показано, что наиболее чувствительной к действию ПЭГ 6000 оказалась такая ткань, как эпидермис щитка, в которой деградирующие изменения происходили в виде деформации клеток происходили уже на 2-е сут эксперимента. Такой результат мы объясняем тем, что клетки эпидермиса щитка не покрыты плотной клеточной стенкой. Кроме того, щиток, как наиболее крупный орган зародыша, подвергается максимальному контакту со стрессовым фактором ПЭГ 6000. Деградация остальных тканей и органов, вплоть до некроза, отмечалась к 5-м сут эксперимента. Согласно данным просвечивающей электронной микроскопии, во всех деградирующих клетках, по мере времени воздействия ПЭГ 6000, происходит усиление вакуолизации клеток, уменьшение количества рибосом, деградация пластид. Сформированные зародыши гибридных комбинаций Э43018 х Тулайковская золотистая, Л42875 х Экада 70, Л42875 х 76/98а, Башкирская 26 х Экада 70, Л42938 х Салават Юлаев оказались способны к формированию проростков в модельных условиях имитации засухи *in vitro* при всех использованных концентрациях ПЭГ 6000 и были использованы нами в дальнейшей работе по разработке экспресс-диагностической биотехнологии выявления засухоустойчивых образцов пшеницы.

Исследование поддержано грантом по Программе фундаментальных исследований ОБН РАН «Биологические ресурсы России: динамика в условиях глобальных климатических и антропогенных воздействий» (2012-2014 гг.).

ВЛИЯНИЕ БИОИНСЕКТИЦИДОВ НА ОСНОВЕ *BACILLUS THURINGIENSIS HA* КАЧЕСТВО КЛУБНЕЙ КАРТОФЕЛЯ

Influence of bioinsecticides based on *Bacillus thuringiensis* on the potato tubers guality

Крыжко А.В., Кузнецова Л.Н.

ГБУ РК Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма, Симферополь, Республика Крым solanum @ukr.net

Картофель традиционно является одним из основных продуктов питания, поэтому технологии его выращивания должны быть направлены, прежде всего, на получение экологически безопасной продукции. Качество клубней картофеля зависит от ряда показателей, значительное место среди которых занимают углеводы и белок. С содержанием и преобразованием углеводов и белков связаны вкус, консистенция, устойчивость клубней при хранении и переработке. Крахмал, являющийся основным запасным углеводом, находится в клубнях в виде крахмальных зерен, размеры которых способны меняться от условий выращивания картофеля. Качество свежеприготовленных продуктов из картофеля, устойчивость их при хранении определяет исходное содержание сахара в клубнях. Целью исследований было изучение влияния экспериментальных препаративных форм на основе штаммов *Bacillus thuringiensis* 994, 0371 и 787 на урожай картофеля с. Явор в сравнении с химическим инсектицидом Калипсо при обработке растений картофеля против личинок колорадского жука. Оценивали содержание крахмала и размер крахмальных зерен, а также содержание растворимого сахара и белка в клубнях. Работа проводились в течение 2011-2014 гг. в условиях полевого опыта на базе ГБУ РК НИИСХ Крыма. В качестве контроля служили растения картофеля, обработанные водой. Препаративные формы разработаны на основе штаммов *Bacillus thuringiensis* (в дальнейшем ВТ) из коллекции бактериальных энтомопатогенов ГБУ РК НИИСХ Крыма. Штаммы 994 и 0371 продуцируют δ-эндотоксин и β-экзотоксин, штамм 787 - исключительно δ-эндотоксин. Анализ клубней на содержание крахмала проводили объемным бихроматным методом по Х.Н. Починоку (1976). Величину крахмальных зерен определяли по Е.Г. Паушевой (1988) с использованием микроскопа, программного обеспечения - морфометра Imade Pro Plus 4.5 и фотокамеры Canon. Общее содержание растворимого сахара в клубнях исследовали фенольными соединениями по M. Dubois, K.F. Gilles (1980). Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием критерия Стьюдента.

Работами по изучению влияния биоинсектицидов и Калипсо на урожайность картофеля с. Явор установлено, что максимальное увеличение урожая с прибавкой к контролю (104,3%) получали при обработке растений ВТ 787, менее высокое (92,9 и 96,3%) с участков, обработанных соответственно ВТ 0371 и ВТ 994. Под действием Калипсо прибавка урожая была наименьшей и составила не более 60,0%. Биохимический анализ клубней показал, что обработка растений картофеля энтомопатогенными штаммами 994 и 787 не оказывает существенного влияния на содержание крахмала (снижение не более 2,2%), в то время как обработка штаммом 0371 способствует его снижению на 4,5%. При обработке растений Калипсо, содержание крахмала в клубнях существенно не менялось. Известно, что с размером крахмальных зерен связанны консистенция картофельного клубня и его рассыпчатость после варки (Briant, 1960). В ходе наших исследований установлено, что обработка растений картофеля ВТ 0371 и ВТ 787 не оказывает существенного влияния на размер крахмальных зерен. Применение ВТ 994 уменьшает большой и малый диаметр зерен на 9,6 и 16,4% соответственно. Обработка растений Калипсо оказывает отрицательное воздействие, уменьшая размер крахмальных зерен на 33,6 и 31,4% соответственно. Отмеченное уменьшение размера крахмальных зерен, особенно под действием химического инсектицида Калипсо, может свидетельствовать об ухудшении пищевых свойств клубней. Установлено, что повышенное содержания сахара негативно влияет на качество картофеля, так как для переработки наиболее пригодны сорта картофеля с низким содержанием сахара, не более 5-6% (Метлицкий, 1970). Повышение содержания растворимых сахаров в клубнях в наших исследованиях наблюдали под действием ВТ 0371 и ВТ 994 на 34,4 и 63,2% соответственно. Обработка картофеля ВТ 787, напротив, способствовала уменьшению содержания сахара на 13,2%. Применение Калипсо не оказывало существенного влияния на исследуемый показатель. Однако, поскольку, полученные данные не свидетельствуют о превышении содержания сахара 1,46% на сухое вещество, можно констатировать, что обработки растений картофеля препаративными формами на основе штаммов *B. thuringiensis* как и химическим инсектицидом Калипсо не вызывают существенного влияния на содержание растворимых сахаров в клубнях. Анализ на содержание белка в клубнях картофеля показал, что обработка картофеля препаративными формами на основе исследуемых штаммов способствует увеличению количества белка в среднем на 42,9%. Обработка растений Калипсо существенного влияния на накопление белка не оказала.

Таким образом, обработка растений картофеля биоинсектицидами на основе энтомопатогенных штаммов *B. thuringiensis* 994, 0371 и 787, в отличие от обработки химическим инсектицидом Калипсо, позволяет получать экологически безопасную продукцию картофелеводства с минимальным негативным воздействием на содержание крахмала, сахара и белка в клубнях.

ВЛИЯНИЕ ГЛИФОСАТА НА РОСТ МИКРОВОДОРОСЛИ *DUNALIELLA SALINA*: МИКРОПЛАНШЕТНЫЙ ТЕСТ

Effect of glyphosate on the growth of microalgae *Dunaliella salina*: a microplate bioassay

Крючкова Е.В., Бурыгин Г.Л., Голубев А.А., Богатырев В.А., Турковская О.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук, Саратов, Россия; kryu-lena@yandex.ru

Глифосат – фосфорорганическое соединение, основа целого ряда гербицидных препаратов. Химическое определение глифосата представляет собой достаточно трудоемкий и дорогой процесс. В связи с этим цель настоящей работы заключалась в создании удобной и чувствительной тест-системы на глифосат с использованием культуры *D. salina* Teod. IPPAS D-294, любезно предоставленной коллекцией культур микроводорослей ИФР РАН (http://www.cellreg.org/Catalog/main.html). Выбор объекта был обусловлен простотой его культивирования, и легкостью регистрации отклика на загрязнитель. Кроме того, одноклеточная зеленая водоросль *Dunaliella salina*, активно используется как биоиндикатор на тяжелые металлы, пестициды, наноматериалы и другие токсические компоненты.

Суспензии водорослей были протестированы на чувствительность к глифосату (*чистота 98%, кислота*), аминометилфосфоновой кислоте (АМФК *основной метаболит глифосата*), изопропиламиновой соли глифосата в составе коммерческого препарата «Раундап» (360 г/л), а также бактериальным супернатантам, полученным после культивирования штамма *Enterobacter cloacae* К7 на минеральной среде, содержащей 10 мМ глифосата в составе «Раундапа». Отклик к поллютантам регистрировали по изменению: скорости и характера роста, количества фотосинтетических пигментов и их спектральных характеристик, а также соотношения живых/мертвых клеток в образце методом флуоресцентной микроскопии. Биотест проводили в полистирольных микропланшетах 12́8 лунок. Тест-объект вносили в питательную среду с различным содержанием глифосата (от 0,5 до 300 мкг/мл) на 72 ч. В качестве контроля засевали водоросли без загрязнителя. Каждый вариант концетрации триплицировали. Планшет помещали в фитокамеру с контролируемыми условиями.

Чистый глифосат и АМФК в диапазоне концентраций от 0,2 до 50 мкг/мл практически не оказывали токсического эффекта на водоросли. Концентрация глифосата 50 мкг/мл вызывала лишь 10% ингибирование прироста. Наибольший отклик всех исследуемых параметров *D. salina*, зарегистрирован в варианте с «Раундапом». Значения токсичности, полученные для «Раундапа», сравнивали со значениями, полученными для бактериальных супернатантов, чтобы определить, насколько снижается токсичность среды после роста бактерий. Концентрация «Раундапа», не вызывающая эффекта ингибирования прироста, составила 1 мкг/мл, а для супернатанта - 2 мкг/мл. Разница между значениями EC_{50} двух растворов составила (%): 40, EC_{90} – 26 и EC_{100} – 24.

Уменьшение количества хлорофилла (Chl) и каратиноидов (Car) в суспензии водорослей, выращенных на «Раундапе», по сравнению с чистым контролем составило: Chl_a в 5,5, Chl_b в 2,1, Car_{x+c} в 7 раз. В 2,6 раза уменьшилось соотношение Chl_a/Chl_b, и почти в 2 раза увеличилось соотношение Chl_a+Chl_b/Car_{x+c}. Содержание Chl_a в суспензии водорослей, выращенных на супернатанте штамма К7, увеличилось в 3 раза по сравнению с «Раундапом», а Car_{x+c} в 4 раза.

Основной органеллой клетки *D. salina* является крупный хлоропласт, содержащий хлорофилл. Подобное строение легко позволяет регистрировать отклик фотосинтетического аппарата на воздействие загрязнителей методом флуоресцентной микроскопии. Для более наглядного представления о токсическом действии гербицидного препарата на водоросли выявляли соотношение живых и мертвых клеток в образцах. Суспензию водорослей фиксировали глутаровым альдегидом в течение 16 часов, наносили на предметное стекло 10 мкл и накрывали покровным. Исследовали с помощью микроскопа Leica LMD7000 (Leica Microsystems, Германия) под увеличением × 200 с использованием светового фильтра I3. Результаты микроскопии показали, что количество живых клеток в образце с «Раундапом» было на 90% меньше, чем в чистом контроле (9 живых клеток против 105), а на бактериальном супернатанте на 40% меньше чем в контроле (60 живых клеток).

Таким образом, исследуемый тест-объект продемонстрировал высокую чувствительность к гербицидному препарату «Раундап». Каждое увеличение концентрации полютанта в 1 мкг приводило к 25%-му повышению отклика водорослей. Установлено, что рост ризосферного штамма *E. cloacae* К7 на гербициде сопряжен со снижением токсичности среды на 40%, что согласуется с убылью глифосата, определенной хроматографическим методом. Полученные данные позволяют считать перспективным использование *D. salina* для индикации остаточных количеств глифосата в водных объектах, а также для первичного скрининга бактерий-деструкторов гербицида.

КООРДИНАЦИЯ РОСТА ПОБЕГА И КОРНЯ И ЕЕ ЗНАЧЕНИЕ В РЕГУЛЯЦИИ ПРОДУКТИВНОСТИ И УСТОЙЧИВОСТИ

The coordination of shoot and root growth and its importance for the control of plant productivity and resistance

Кудоярова Г.Р., Иванов И.И., Высоцкая Л.Б., Трапезников В.К.

Уфимский институт биологии РАН, Уфа, Россия; guzel@anrb.ru

Распределение ассимилятов между побегом и корнем – один из основных механизмов, обеспечивающих ростовой ответ на внешние воздействия, лежащий в основе адаптации растений к условиям обитания. Относительная активация роста корней повышает способность корневой системы поглощать воду и элементы минерального питания при их дефиците. Эта реакция связана со снижением уровня цитокининов и накоплением АБК при корневых стрессах, поскольку известно, что цитокинины стимулируют рост побега, подавляя рост корней, а АБК обеспечивает поддержание роста корней при стрессе. Содержание цитокининов при этом может снижаться как за счет уменьшения их притока из корней, так и в результате повышения скорости распада цитокининов при стрессе. Анализ данных литературы и полученных нами результатов свидетельствует о сопряженности изменения цитокининов и АБК при стрессе, которая заключается в повышении экспрессии гена, кодирующего цитокининоксидазу и активности кодируемого им фермента под влиянием накопления АБК.

Повышение уровня минерального питания сопровождается увеличением притока цитокининов из корней, что способствует стимуляции роста побега и возрастанию продуктивности растений в оптимальных условиях. При этом происходит относительное (по сравнению с побегом) подавление роста корней. У трансгенных растений табака с термо-индуцируемым накоплением цитокининов мы наблюдали стимуляцию роста побега и подавление роста корней, а обработка растений пшеницы цитокининпродуцирующими бактериями стимулировала рост побега в большей степени, чем рост корней, снижая относительную (по сравнению с побегом) массу корней. Сформулированная в 2014 г. гипотеза Hachiya с соавторами о способности цитокининов подавлять отток ауксинов из побега в корень и известная зависимость развития корней от притока из побега ауксинов позволяют объяснить относительное подавление роста корней при повышении уровня цитокининов взаимодействием этих гормонов.

Уменьшение соотношения массы побега и корня, являющееся результатом повышения уровня минерального питания, может отрицательно сказаться на устойчивости растений к засухе. Полевые исследования, которые проводились в нашей лаборатории на протяжении нескольких десятков лет, свидетельствуют о том, что равномерное внесение удобрений повышает чувствительность растений к засухе. Это проявляется в большем (в процентном отношении) снижении продуктивности растений на фоне равномерного внесения удобрений по сравнению с растениями, которые выращивали без удобрений. Так средняя продуктивность растений шести испытанных сортов твердой пшеницы в отсутствие удобрений снижалась под влиянием засухи только на 35% (с 31 до 20 ц/га), а на фоне равномерного внесения удобрений – почти в 2 раза (с 42 до 22 ц/га). Связь повышения чувствительности растений твердой пшеницы к засухе с ослаблением развития корневой системы подтверждают модельные лабораторные эксперименты. Они показали резкое снижение относительной (по сравнению с побегом) массы корней у растений под влиянием повышения уровня минерального питания. Важно то, что неравномерное распределение макроэлементов между прядями разделенной корневой системы (модель split root system) уменьшало ингибирующее влияние повышенного уровня минерального питания на рост корней. Это сказывалось на продуктивности растений, которая на фоне локального внесения удобрений снижалась под влиянием засухи лишь на 40% (с 44 до 27 ц/га), и была выше, чем на фоне равномерного внесения удобрений. Оценка содержания АБК и цитокининов выявила уникальную особенность растений, выращенных на фоне неравномерного распределения макроэлементов. Как и дефицит ионов, их неравномерное распределение стимулировало накопление АБК. При этом повышение общего уровня минерального питания при их неравномерном распределении стимулировало накопление цитокининов. Такое необычное сочетание повышенного уровня как АБК, так и цитокининов сопровождалось накоплением ауксинов в пряди корней, контактирующей с повышенным уровнем макроэлементов, и активацией их ветвления.

Наши дальнейшие исследования будут направлены на проверку возможной причинно-следственной связи между изменением уровня и распределения цитокининов, АБК и ауксинов при неравномерном внесении удобрений. Но каков бы ни был механизм действия локального внесения удобрений, важен сам факт их положительного влияния на продуктивность и устойчивость растений. «Зеленая революция» основанная на применение удобрений и селекции растений по биомассе их надземной части привела к ослаблению корневой системы и к тому, что современные биологи растений переориентированы на «зеленую революцию под землей». Однако селекция растений по степени развития корневой системы потребует много времени. Предложено использовать трансгенные растения с пониженным уровнем цитокининов в корнях растений для стимуляции роста корней и повышения и засухоустойчивости. Однако этот подход может отрицательно сказаться на продуктивности растений. Как альтернатива, локальное внесение удобрений повышает одновременно и устойчивость и урожайность растений, стимулируя рост как побегов, как и корней.

Работа выполнена при частичной поддержке гранта РФФИ 15-04-04750.

РОЛЬ СИСТЕМ СИГНАЛИНГА АБСЦИЗОВОЙ КИСЛОТЫ И ЦИТОКИНИНА В ЗАЩИТНОЙ РЕАКЦИИ РАСТЕНИЙ *ARABIDOPSIS THALIANA* НА ТЕПЛОВОЙ ШОК

The role of cytokinin and abscisic acid signaling in the defense response of *Arabidopsis thaliana* to heat shock

Кудрякова Н.В., Данилова М.Н., Дорошенко А.С., Забродин Д.А., Кузнецов В.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; nkudryakova@rambler.ru

Особая роль в ответе растений на воздействие стрессоров, включая тепловой шок, принадлежит двум гормонам абсцизовой кислоте и цитокинину, обладающим полифункциональными протекторными свойствами. Изучение механизмов взаимной регуляции компонентов метаболизма и трансдукции этих двух фитогормонов при действии повышенной температуры проводили с использованием модельного растения *Arabidopsis thaliana,* для которого получен набор нокаутированных мутантов по синтезу и компонентам трансдукции сигналов этих фитогормонов. Наряду с оценкой жизнеспособности мутантов под действием гипертермии, определяли биохимические индикаторы интенсивности стрессового воздействия (накопление пролина и малонового диальдегида), и анализировали изменения в накоплении продуктов генов белков теплового шока (*Hsp90.1 Hsp90.5*) и транскрипционного фактора теплового шока (*HsfA2*), а также стресс-индуцируемых генов - маркеров окислительного стресса (*Aox1a, RD29, PsbS, PRODH1, P5CS1, Sig5).* Как показали проведенные исследования, ответ растения на воздействие повышенных температур во многом определялся его гормональным статусом. Мутанты с инактивированными генами синтеза и особенно восприятия сигнала АБК отличались пониженной термостабильностью и накапливали повышенные количества транскриптов стресс-индуцируемых генов. Растения с инактивированными компонентами синтеза и восприятия сигнала ЦК, напротив, обнаружили большую устойчивость к действию высокой температуры и накапливали пониженные по сравнению с образцами дикого типа уровни матричной РНК генов окислительного стресса. Вместе с тем усиление стрессового воздействия (повышение температуры с 36 до 38°С при трехчасовой экспозиции) способствовало снижению термостабильности мутантов по рецепторам ЦК в сравнении с диким типом. Стимуляция защитных механизмов в условиях гипертермии сопровождалась подавлением экспрессии генов биосинтеза и деградации ЦК *(IPT3* и *CKX1*) и генов регуляторов ответа на этот гормон *(ARR1* и *ARR5*), однако она не приводила к достоверному изменению уровня мРНК генов рецепторов ЦК и гена компонента цепи сигналинга АБК *Abi1* , кодирующего серинтреониновую фосфатазу типа 2с, но активировала экспрессию гена *Abi2.* Эта информация свидетельствует о непосредственном участии систем передачи сигналов ЦК и АБК в защитных реакциях на тепловой стресс, однако конкретные механизмы протекторного действия обоих гормонов неоднозначны и определяются силой стрессорного воздействия.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант №14-04-00584).

ФОСФАТМОБИЛИЗИРУЮЩИЕ И АУКСИН ПРОДУЦИРУЮЩИЕ БАКТЕРИИ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В РАСТЕНИЕВОДСТВЕ

Phosphate-mobilizing and auxin-producing bacteria for application in crop production

Кузьмина Л.Ю., Галимзянова Н.Ф., Высоцкая Л.Б., Архипова Т.Н., Четвериков С.П., Гильванова Е.А., Актуганов Г.Э., Габбасова И.М., Кудоярова Г.Р., Мелентьев А.И.

Уфимский Институт биологии РАН, Уфа, Россия; ljkuz@anrb.ru

В настоящее время создание новых биопрепаратов для растениеводства базируется на использовании микроорганизмов, обладающих комплексом целевых свойств. Одной из важных проблем современного сельского хозяйства является дефицит фосфорного питания растений. Фосфор в почве находится в трудно доступной растениям форме, важная роль в его мобилизации принадлежит почвенным бактериям. Поэтому отбор бактерий, перспективных для разработки на их основе ростостимулирующих биопрепаратов, должен учитывать их способность мобилизовать соединения фосфора и возможность влиять на развитие растений, оптимизируя соотношение побег/корень, которое реализуется через продукцию фитогормонов.

В Уфимском Институте биологии РАН создана коллекция бактерий, обладающих способностью растворять труднодоступные соединения фосфора и продуцировать ауксины. В коллекции представлены шесть штаммов грамотрицательных аэробных палочек – представителей рода *Pseudomonas* - *P. myxogenes (биовар III P. fluorescens)* IB-Ki-13-1A*, P. myxogenes* IB-Ki-13-2, *P. aurantica* IB-Ki 11-1, *P. aurantica* IB-Ki 11-2, *Pseudomonas* sp. IB-Ki-19, *Pseudomonas* sp. IB-Ki-13-1B), а также пять штаммов грамположительных аэробных спорообразующих бактерий родов *Bacillus (B. subtilis* IB-21, IB-22, IB-54) и *Paenibacillus* (*P. illinoisensis* IB 1087 и *P. ehimensis* IB-Xb).

Все штаммы утилизируют органические и неорганические соединения фосфора. Виды рода *Pseudomonas* способны растворять неорганические (ортофосфат кальция) и органические (глицерофосфат и инозитолгексафосфат) соединения фосфора уже на первые-вторые сутки культивирования на твердых питательных средах. Среди спорообразующих бактерий инозитглицерофосфат гидролизовали все культуры, однако только штамм - *P. illinoisensis* IB 1087 был способен растворять ортофосфат кальция. Способность к растворению фосфатов у спорообразующих бактерий была выражена существенно меньше, чем у псевдомонад.

Максимальная продукция ауксина у штаммов *P. myxogenes* IB-Ki-13-1A, *P. myxogenes* IB-Ki-13-2, *P. aurantica* IB-Ki 11-1 наблюдалась на среде с глицерином и достигала 560-790 нг/мл. Спорообразующие бактерии синтезировали ауксин на среде с крахмалом в концентрациях 540 нг/мл *(P. illinoisensis* IB 1087) и 840 нг/мл (*B. subtilis* IB-21). У остальных культур продуктивность синтеза ауксина была ниже.

Определена нитрогеназная активность выделенных штаммов. Заметной нитрогеназной активностью обладали штаммы - *P. myxogenes* IB-Ki-13-2 (0,24 мкг N_2/мл/ч), *Pseudomonas* sp. IB-Ki-13-1B (0,15 мкг N_2/мл/ч), *B. subtilis* IB-54 (0,32 мкг N_2/мл/ч), *P. illinoisensis* IB 1087 (0,30 мкг N_2/мл/ч).

Изучена антагонистическая активность спорообразующих бактерий. Максимально широкий спектр активности выявлен у штамма *B. subtilis* IB-54 который подавлял рост 18 штаммов фитопатогенных и фитотоксичных грибов родов *Aspergillus, Fusarium, Penicillium, Trichoderma,* в том числе 10 видов из рода *Fusarium*. Штамм *B. subtilis* IB-21 проявлял антагонизм к 8 видам из рода *Fusarium.*

Таким образом, коллекция представляет собой перспективную основу для дальнейших исследований с целью создания биопрепаратов с полифункциональной активностью для сельского хозяйства.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, грант №14-04-97049.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СОДЕРЖАНИЯ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ В ЛИСТЬЯХ ЧЕРЕМУХИ МААКА *(PADUS MAACKII* (RUPR.) KOM.) В РАЗЛИЧНЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ГРУППАХ НАСАЖДЕНИЙ Г. ИЖЕВСКА

Comparative characteristics of the content of ascorbic acid in the leaves of the Manchurian cherry (*Padus Maackii* (Rupr.) Kom.) in various ecological groups in Izhevsk

Кузьмина Н.М.

Отдел интродукции и акклиматизации растений Удмуртского научного центра Уральского отделения РАН, Ижевск, Россия; kuzmina1956@mail.ru

Черемуха Маака занимает в озеленении города Ижевска 0,3% от доли видового состава. Встречается в дворовых насаждениях, в магистральных посадках, редко в скверах и парках города Ижевска. Черемуха Маака признана устойчивым видом в условиях техногенной среды (Семкина, 1991; Сафронова, 2009). Многими авторами (Солодухин, 1962; Воробъев, 1968 и др.) отмечается высокая декоративность черемухи Маака. Нами было проведено исследование качества декоративных свойств черемухи Маака в различных категориях насаждений города Ижевска в 2012 г. по сезонам года. Для исследования было выбрано 185 деревьев черемухи Маака из трех категорий насаждений города Ижевска, которые произрастают в девяти экологических группах по условиям произрастания.

Аскорбиновой кислоте принадлежит значительное место в дыхании растений. Наличие аскорбиновой кислоты в растении и ее участие в дыхательной системе придает большую стойкость растительному организму. В данной работе было определено содержание аскорбиновой кислоты в листьях черемухи Маака в различных категориях насаждений г. Ижевска, и выявлена зависимость декоративности насаждений от количества аскорбиновой кислоты в листовых пластинах черемухи Маака. Биохимический анализ на содержание аскорбиновой кислоты проводился в основные фазы развития листовых пластинок черемухи Маака. Первый анализ был проведен в момент роста листовой пластины в середине июня. Второй анализ проведен в середине июля, когда лист полностью сформировался и третий в середине августа перед фазой обесцвечивания.

Черемуха Маака, согласно данным других авторов (Соколова, 2004), по дифференцированной шкале светолюбия древесных пород отнесена к числу относительно светолюбивых видов. По шкале отношения древесных пород к влажности почвы она тяготеет к гигромезофитам. Количество аскорбиновой кислоты зависит от многих факторов. Основными факторами являются: влагообеспечение, степень инсоляции, температура внешней среды (Овчаров, 1969) . В нашем примере на момент взятия материала для исследования температура среды была одинаковой, а влагообеспечение и степень инсоляции насаждений черемухи Маака в исследуемых экологических группах, различна. По данным метеонаблюдений вегетационный период с мая по август 2013 г. проходил с дефицитом влагообеспечения, на фоне высоких дневных температур 25-30˚С.

Проанализировав полученные данные, были сделаны следующие выводы. Количество аскорбиновой кислоты в листьях черемухи Маака к концу вегетации уменьшается во всех экологических группах. Динамика уменьшения сильно отличается в зависимости от различных экологических групп насаждений. Количество аскорбиновой кислоты в листьях зависит от места произрастания. В условиях с высокой степенью инсоляции и достаточным увлажнением содержание аскорбиновой кислоты в листьях черемухи Маака наиболее высокое, что повышает жизнестойкость насаждений. Это в основном отдельно стоящие деревья, произрастающие в скверах и парках города, рядовые или аллейные посадки вдоль пешеходных дорожек в отдалении от магистрали, одиночные и групповые посадки на открытом месте в дворовых посадках. Дефицит влаги повлиял на жизнестойкость придорожных насаждений с большим уклоном. Содержание аскорбиновой кислоты в данных группах на низком уровне. После нескольких засушливых лет (2012-2013 гг.) многие деревья погибли или полностью потеряли декоративность. Средняя оценка декоративности имеет частичную зависимость от среднего содержания аскорбиновой кислоты в листьях черемухи Маака в различных экологических группах насаждений. Коэффициент корреляции $r = 0,6$ показывает, что имеется прямая средняя связь (близка к сильной) между оценкой декоративности и содержанием аскорбиновой кислоты в листьях черемухи Маака. В предыдущих исследованиях (Кузьмина Н.М., Федоров А.В., 2013) было отмечено, что высокодекоративные насаждения в оптимальных условиях местопроизрастания теряют качество декоративности при сильном изменении факторов условий существования. Выводы данной работы еще раз подтверждают, что планирование посадок древесных растений в городской среде должно осуществляться в соответствии с их биологическими особенностями. В противном случае жизнестойкость насаждений снижается, а это в свою очередь приводит к заболеваниям и преждевременной гибели отдельных деревьев. Это можно было увидеть на примере исследуемых нами насаждений черемухи Маака. Многие особи черемухи Маака из экологических групп с неблагоприятными условиями произрастания для данной древесной породы (недостаточное увлажнение из-за сильного уклона, смешанные загущенные посадки, низкая инсоляция, близость дорожного полотна) после нескольких засушливых лет (2012-2013 гг.) погибли или полностью потеряли декоративность.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ КАДМИЯ НА ТРАНСКРИПТОМ ГОРОХА (*PISUM SATIVUM* L.) С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ MACE-СЕКВЕНИРОВАНИЯ

Study of transcriptome responses to cadmium in pea (*Pisum sativum* L.) with the use of MACE-sequencing

Кулаева О.А., Жернаков А.И., Жуков В.А., Цыганов В.Е., Тихонович И.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия; oakulaeva@gmail.com

Одним из факторов, оказывающим существенное влияние на большинство растительных организмов, является присутствие тяжелых металлов в почве, воде и атмосфере. В ответ на действие токсичных веществ, у растений, так же как и у других живых организмов, начинается запуск специальных адаптивных механизмов. Одним из наиболее токсичных тяжелых металлов является кадмий. Данный тяжелый металл не является микроэлементом, необходимым для роста большинства растений и животных и не участвует в каких-либо процессах клеточного метаболизма за редким исключением у диатомовых водорослей, у которых он имеет биологическую функцию. Соли кадмия хорошо растворяются в воде и могут быть поглощены растениями. Передача кадмия по пищевым цепям вызывает серьезные нарушения у многих живых организмов.

Во ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии исследования механизмов устойчивости растений к кадмию проводятся с использованием гороха линии SGE и полученного на ее основе мутанта SGECd^t, характеризующегося повышенной устойчивостью к кадмию, а также накоплением данного тяжелого металла. В ходе проведения гибридологического анализа, мутант SGECd^t был охарактеризован как имеющий моногенное наследование и рецессивный фенотип. Был выявлен диапазон концентраций хлорида кадмия, при которых наблюдается фенотипическое проявление мутации *cdt*. Было показано, что мутантная линия способна поддерживать организацию митотических и кортикальных микротрубочек при концентрации хлорида кадмия, вызывающей их деполимеризацию у исходной линии. Одним из основных параметров устойчивости мутанта SGECd^t является сохранение способности образования боковых корней при широком диапазоне концентраций хлорида кадмия.

В основе механизмов устойчивости к кадмию во многих случаях лежит индуцированный синтез белков, связанный с экспрессией определенных групп генов. В настоящий момент недостаточно изученными остаются вопросы пути передачи сигналов и механизмы изменения экспрессии генов под действием кадмия. В данной работе был проведен анализ влияния кадмия на изменение транскриптома двух линий гороха, контрастных по признаку устойчивости к кадмию.

Характерной особенностью большинства транскриптомов является превалирование определенного набора транскриптов. Однако оценка количества низкокопийных транскриптов крайне важна при изучении механизмов адаптации организмов к разнообразным стрессорам. Компания GenXPro (Германия) разработала метод MACE (massive analysis of cDNA ends), заключающийся в прочтении транскриптов преимущественно с 3'-конца. Данный подход позволяет выявить низкокопийные транскрипты и, таким образом, обладает высокой разрешающей способностью. Компания успешно применяет метод для анализа транскриптома человека. Важной задачей представляется применение метода MACE для изучения транскриптомов не модельных объектов, например гороха. В ходе проведения исследования из контрольных и обработанных кадмием корней была выделена РНК, синтезирована кДНК, секвенированная на приборе Illumina HiSeq2000. Для анализа данных применяли несколько подходов: 1) полученные риды были картированы на известные EST-гороха; 2) оставшиеся риды были собраны в контиги с использованием ассемблера Trinity. Было собрано 37215 контигов, часть из них удалось аннотировать. Анализ дифференциальной экспрессии генов указал на разные пути формирования ответа на действие кадмия у двух линий гороха. При действии кадмия у растений линии SGE было выявлено повышение экспрессии 835 транскриптов, в то время как у мутанта SGECd^t выявлялось усиление экспрессии 101 транскрипта. Снижение экспрессии 355 транскриптов выявлялось у линии SGE, у мутанта SGECd^t снижалась экспрессия лишь 13 транскриптов. Функциональная аннотация выявила, что при действии кадмия у линии SGE превалирует экспрессия генов, продукты, которых, связанны с каталитической активностью, в то время как у мутанта SGECd^t – с процессами связывания различных компонентов. Также было выявлено, что мутант SGECd^t и исходная линия SGE различаются по уровню экспрессии ряда генов в контрольных условиях.

Исследование изменения транскриптомных профилей бобовых растений под действием кадмия может способствовать развитию новых направления в разработке систем фиторемедиации почв и создания сортов с пониженным содержанием кадмия.

Данная работа была финансово поддержана РНФ (14-24-00135).

СТРУКТУРНЫЕ БЕЛКИ В РУСЛЕ ФЛОЭМНОГО ТРАНСПОРТА

Structural proteins in the path of phloem transport

Куликова А.Л.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; akulikova05@mail.ru

За прошедшие два десятилетия представление о роли флоэмного транспорта у высших растений значительно расширилось. Утвердилось понимание того, что проводящая система флоэмы служит не только трубопроводом для массового потока раствора ассимилятов от источника (source) в фотосинтезирующих органах к гетеротрофным органам – потребителям (sink), но является каналом для передачи информации посредством электрических или химических сигналов. Флоэмный транспорт координирует и интегрирует рост, развитие и ответные реакции растения на биотические и абиотические стрессы (Knoblauch, Peters, 2010; Van Bel et al., 2013). Структурной основой канала дальнего транспорта флоэмы является комплекс высокоспециализированных компонентов – безъядерных ситовидных элементов (СЭ) и объединенных с ними плазмодесмами сопровождающих клеток (СК). В состав флоэмы входят также паренхимные клетки, которые содержат запасной пул сахаров, ионов и воды. В основе механизма флоэмного транспорта лежит гипотеза Мюнха о массовом токе раствора по ситовидным трубкам под действием разницы гидростатического давления в начале и конце пути, которая претерпела к настоящему времени ряд существенных изменений. Показано, что мембраны СЭ не полностью непроницаемы для молекул сахаров, передвигающихся в русле дальнего транспорта. Транспортная флоэма имеет двойственную функцию: она доставляет продукты фотосинтеза к конечному потребителю, а также к латеральным потребителям, расположенным вдоль пути транспорта (Van Bel, 2003). Латеральные потребители конкурируют с СЭ за сахара и способствуют поддержанию постоянного выхода (leakage, release) и возврата (retrieval) сахаров в ситовидные трубки по пути следования (Thorpe et al., 2005; De Schepper et al., 2013). Предполагается, что выход молекул сахаров из СЭ/СК комплекса в окружающий апопласт происходит пассивно, путем диффузии, а возврат в русло транспорта - активно, путем симпорта с протоном. Активность переносчиков контролируется ионами K^+, Ca^{2+} и изменением концентрации сахарозы в апопласте. На плазматических мембранах СЭ и СК обнаружены мембранные транспортеры сахарозы (Kuhn, 2003; Doidy et al., 2012) и белки калиевых и кальциевых каналов (Deeken, 2000; Volk, 2000; Van Bel, Hafke, 2005). Постоянно меняющиеся внутренние и внешние условия жизни растений требуют гибкой и разнообразной системы регуляции системы leakage/retrieval сахаров и ионов вдоль пути переноса ассимилятов. Этот механизм должен быть способен быстро восстановить нарушения осмотических градиентов в русле при изменении активности источника или потребителя, т.е. скорости поступления или расхода сахаров (Van Bel, Hafke, 2005).

Известно, что везикулярный транспорт, встраивание и регуляция активности мембранных переносчиков в клетках осуществляется при участии актинового цитоскелета. Ингибиторный анализ показал, что в зрелых СЭ флоэмы происходит постоянный рециклинг транспортеров сахарозы StSUT1, для которого обязательно участие актиновых микрофиламентов и не нужны микротрубочки (Liesche et al., 2008, 2010).

Убедительно доказано присутствие актина во всех элементах флоэмы. По нашим данным содержание актина в изолированной флоэме борщевика выше, чем в большинстве растительных тканей, и составляет примерно 2% от общего белка клеток. Такое же количество актина было обнаружено нами лишь в усиках тыквы. От 0.8 до 1.3% актина от общего белка содержалось в ксилеме борщевика, а также в колеоптилях, листьях и кончиках корней проростков пшеницы. В клетках зрелой, закончившей рост части корня пшеницы и в межпучковой паренхиме черешка борщевика содержание актина составляло 0,2-0,3% от общего клеточного белка. В ситовилном экссудате, полученном из ряда двудольных и однодольных растений и представляющем собой содержимое ситовидных трубок, обнаружен актин и некоторые актинсвязывающие белки (Shobert et al., 1998, 2000; Куликова, Пурясева, 2002). Методом иммуноцитохимии продемонстрировано присутствие актина и миозина VIII в районе ситовидной пластинки во вторичной флоэме ряда древесных видов (Chaffey, Barlow, 2001). Наличие хорошо развитой сети париэтально расположенных актиновых микрофиламентов в СЭ бобов недавно было продемонстрировано методами конфокальной световой микроскопии с флюоресцентным фаллоидином и электронной микроскопии с использованием анти-актиновых антител, меченых золотом (Hafke et al., 2013). Авторы заключили, что актиновый цитоскелет регулирует поступление Ca^{2+} из апопласта в СЭ при холодовом шоке.

Помимо актиновых филаментов, в СЭ большинства видов покрытосеменных растений содержатся филаменты специфичных для флоэмы структурных белков (так называемые флоэмные белки, Р-белки) (Behnke, 1991; Clark et al., 1997). При повреждениях флоэмы филаменты Р-белков скапливаются на ситовидных пластинках и проходят в поры ситовидной пластинки, что дало основание для предположения об их защитной функции - способности препятствовать вытеканию сока при повреждении флоэмы. Однако, недавно было показано, что ни у интактных, ни у поврежденных растений эти белки не вызывают прекращения транспорта раствора по ситовидным трубкам (Knoblauch et al., 2014). Таким образом, физиологическая роль этих белков остается загадочной.

СТРУКТУРНЫЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ПЛОДОВ *MALUS* MILL. (MALOIDEAE), ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В ГОРАХ

Structural and functional characteristics of photosynthetic apparatus of fruits *Malus* Mill. (Maloideae), native to the mountains

Кумахова Т.Х.[1], Пикуленко М.М.[2]

[1] *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет - МСХА имени К.А. Тимирязева», Москва, Россия* *tkumachova@gmail.com*.

[2] *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия* *pikulenkomarina@mail.ru*

Горные условия, характеризующиеся высокой интенсивностью солнечной радиации, богатой УФ-лучами, разреженностью атмосферы, пониженной температурой, сопровождающиеся резкими суточными колебаниями являются особой средой, которые оказывают на растение специфические стрессовые воздействия. Поэтому интерес представляет фотосинтетический аппарат плодов горных растений яблони, обладающие высоким потенциалом выработки приспособительных механизмов, необходимых для завершения программы онтогенеза. Перспективность исследований обусловлена, тем что эти материалы наряду с теоретическим представляют немаловажный практический интерес, так как могут стать основой для создания наиболее приспособленных к суровым климатическим условиям форм растений, а также прогнозирования успешности их интродукции в зоны рискованного земледелия и техногенных ландшафтов

Проведенные нами исследования показали, что адаптация фотосинтетического аппарата плодов яблони к суровым горным условиям происходит по линии количественной и качественной стратегии. По данным трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) популяция хлоропластов представлена, главным образом, в субэпидермальном слое. Их главная особенность – пристеночное положение, хорошо развитая мембранная система, многочисленные картины слияния и деления, а также контакты между собой и с другими органеллами. На микрографиях ТЭМ в гранальной структуре стромы хлоропластов молодых плодов хорошо видны области, содержащие птДНК, представляющие собой более рыхлые участки. По нашим наблюдениям более развитый пластидом отмечается в клетках горных плодов, их количество почти в два раза больше, по сравнению с равнинными. При этом с увеличением высоты произрастания плодовых растений кардинально перестраивается мембранная система хлоропластов, в них граны состоят из меньшего числа тилакоидов. Кроме того обращает на себя внимание интенсивное накопление различных белковых включений, в частности ферритина-железосодержащего белка. Как известно, железо входит в состав простетической группы ферментов и выполняет важную роль в функционировании электронно-транспортных цепей фотосинтеза и дыхания. Для растений подвергающихся воздействию стрессовых факторов, ферритин играет важную роль в регуляции окислительно-восстановительных реакций с участием железа.

Наряду с структурными изменениями в горах изменяется и активность фотосинтетического аппарата плодов яблони. У яблок интенсивность фотосинтеза составляет примерно 4-5% от фотосинтеза листьев. В том случае, когда листья не могут нормально фотосинтезировать, скорость фотосинтеза в клетках околоплодника увеличивается и может стать больше обычной скорости фотосинтеза листа. Для оценки функционального состояния фотосинтетического аппарата (ФСА) яблок, мы измеряли интенсивность флуоресценции хлорофилла а (Фл хл) при возбуждении насыщающими вспышками света в темноте и на действующем свету разной интенсивности. Эффективность фотосинтеза хлорофилла яблок, выращенных в горах, оказалась значительно ниже наблюдаемой у таковых на равнине. Сравнение параметров Фл хл при воздействии света и без освещения показало, что у равнинных плодов изменение режима освещения не приводят к существенным изменениям в скорости нециклического потока электронов, а в хлоропластах горных плодов квантовая эффективность значительно уменьшается по сравнению с потенциальной эффективностью оцененной в темноте.

Зарегистрированные различия показателей ФС активности хлоропластов в комплексе с ультраструктурными изменениями можно рассматривать адаптивной реакцией к факторам стресса в горах и, как нам представляется, дополняют имеющиеся в литературе молекулярные, и физиолого-биохимические аспекты сигнальной роли пластид.

CO_2-КОНЦЕНТРИРУЮЩИЙ МЕХАНИЗМ АЛКАЛОФИЛЬНЫХ ЦИАНОБАКТЕРИЙ

CO_2-concentrating mechanism of alkaliphilic cyanobacteria

Куприянова Е.В., Пронина Н.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; ivlaanov@mail.ru

По последним оценкам, оксигенный фотосинтез появился у цианобактерий примерно 3.5 млрд. лет назад. Его становление происходило в условиях древней восстановительной атмосферы, характеризующейся высоким значением соотношения $[CO_2]/[O_2]$. Около 2 млрд. лет назад ситуация изменились кардинальным образом: сформировалась атмосфера современного окислительного типа с низким показателем $[CO_2]/[O_2]$. Эти условия стали критическими для фотоавтотрофов из-за крайне низкого сродства ключевого фермента цикла Кальвина, рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазы/оксигеназы (РБФК/О), к CO_2. Одновременно, ситуация осложнялась усилением доли оксигеназной реакции, катализируемой этим бифункциональным ферментом. Как результат, в новых условиях ранняя модель фотосинтеза перестала эффективно выполнять свои функции, что привело к формированию у фотоавтотрофов адаптивных механизмов, позволяющих сохранять фотосинтетическую продуктивность.

У современных цианобактерий подобная адаптации обеспечивается функционированием в их клетках CO_2-концентрирующего механизма (ССМ, от англ. «CO_2-concentrating mechanism»). Результат работы ССМ выражается в создании повышенной концентрации CO_2 вблизи активных центров РБФК/О, что существенно повышает эффективность его фиксации. Таким образом, внутри клетки как бы воссоздаются условия ранней атмосферы Протерозоя. Общемировые исследования последних нескольких десятков лет, проведенные на модельных штаммах морских и пресноводных цианобактерий, показали, что действие ССМ основано на совместной работе систем поглощения неорганического углерода (C_i, CO_2+HCO_3^-) и фермента карбоангидразы (КА), ответственного за преобразование форм C_i. В результате в цитоплазме создается внутриклеточный пул бикарбоната с его последующим превращением в CO_2 в специализированных микрокомпартментах – карбоксисомах, включающих в себя РБФК/О. Важным моментом является совместная локализация в карбоксисомах РБФК/О и КА, что предотвращает спонтанную утечку CO_2. Кроме того, оболочка карбоксисом непроницаема для кислорода, и это дополнительно сокращает риски фотодыхания.

Крайне интересными объектами для изучения ССМ являются алкалофильные цианобактерии содовых озер. С одной стороны, эти организмы обитают в среде с высоким содержанием бикарбоната, что теоретически не требует внутриклеточного накопления C_i. С другой стороны, цианобактерии содовых озер рассматривают как реликты наземной микробиоты Протерозоя, развивавшейся в эпоху древней атмосферы, богатой CO_2. Следственно, их изучение может дополнить имеющуюся на настоящий момент картину возникновения и эволюции ССМ. Наши исследования последних 15 лет показали, что алкалофильные цианобактерии, по-видимому, обладают полноценным ССМ, аналогичным таковому у пресноводных и морских штаммов. В докладе обсуждаются вопросы функциональной и структурной особенностей «алкалофильного» ССМ, вероятно, обусловленные эволюцией реликтовых цианобактерий в экстремальных условиях содовых озер.

Работа поддержана грантом Российского фонда фундаментальных исследований (№ 13-04-00193а).

ВЛИЯНИЕ *BACILLUS SUBTILIS* НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В ТКАНЯХ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

Effect of *Bacillus subtilis* on the lipid peroxidation in tissues of crops under heavy metal stress

Курамшина З.М.[1], Смирнова Ю.В.[1], Хайруллин Р.М.[2]

[1] *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Башкирский государственный университет», Стерлитамак, Россия*
kuramshina_zilya@.mail.ru

[2] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия; krm62@mail.ru*

Одной из причин токсичности тяжелых металлов (ТМ) является их способность индуцировать окислительный стресс, связанный с увеличением перекисного окисления липидов (ПОЛ) и изменением антиоксидантной системы растений. Следствием этих процессов могут быть нарушения метаболизма и даже гибель растений. В настоящее время все большее значение приобретают исследования в области экологически чистых технологий, использующих микроорганизмы для повышения устойчивости растений к стрессовым факторам. Ранее нами было показано положительное влияние обработки семян клетками *Bacillus subtilis* штамма 26Д на рост ряда сельскохозяйственных при действии ионов кадмия. Однако остается неясным вопрос о роли эндофитных бактерий в развитии окислительного стресса растений, вызванного тяжелыми металлами. В связи с этим, цель настоящей работы заключалась в изучении влияния обработки семян клетками *Bacillus subtilis* штамма 26Д на ПОЛ в тканях сельскохозяйственных растений при воздействии ионов тяжелых металлов (Cd, Ni). В качестве объекта исследования были выбраны растения яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L., Омская-35) и горчицы белой (*Sinapis alba* L., Рапсодия).

Семена тщательно промывали в мыльном растворе, стерилизовали 96%-м этанолом в течение 1 мин, трижды ополаскивали в дистиллированной воде. Обработку семян бактериями проводили в стерильных условиях (в ламинар-боксе). В опытах использовали 20-ч культуру бактерий, растущую на мясо-пептонном агаре при 37°С. Клетки бактерий отмывали раствором 0,001 М KCl. Суспензию клеток доводили до необходимой концентрации по оптической плотности. 1 г семян обрабатывался 20 мкл суспензии бактерий с титром клеток 1 млрд./мл. Инокулированные и контрольные семена выращивали в чашках Петри (d =140 мм, h =24 мм) на фильтровальной бумаге, смоченной дистиллированной водой или раствором ТМ. Раствор соли ТМ готовили в пересчете на содержание иона металла. Растения выращивали при температуре 18-20°С и равномерной освещенности. Токсическое действие различных концентраций ТМ (1, 10, 20, 40 мг/л) оценивали по изменению сырой массы 5-сут растений. Перекисное окисление липидов в растительных тканях измеряли по содержанию веществ, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК). Растительный материал (250 мг) гомогенизировали с 4 мл 1% трихлоруксусной кислотой, с последующим центрифугированием в течение 20 мин при 8000 об/мин. Реакционную смесь, содержавшую 1 мл супернатанта и 4 мл 0,5%-ной ТБК в 20%-ной ТХУ, инкубировали 30 мин при 95°С, быстро охлаждали на ледяной бане и центрифугировали 15 мин при 8000 об/мин. Концентрацию малонового диальдегида (МДА) определяли при 532 нм с помощью спектрофотометра UNICO 2800, вычитая величину неспецифической экстинкции при 600 нм. Содержание МДА рассчитывали с использованием коэффициента экстинкции, равного 155 $мМ^{-1}см^{-1}$. Все эксперименты проводили в трех биологических повторностях.

В ходе проведенных экспериментов было показано, что низкие концентрации ионов ТМ либо стимулировали рост растений, либо не оказывали на них заметного влияния. Наиболее токсичным металлом был кадмий. Сельскохозяйственные культуры также различались по устойчивости к ТМ. Так у растений пшеницы при действии высоких концентраций ТМ (20, 40 мг/л) наблюдали угнетение роста и корней, и побегов, у растений горчицы – только угнетение роста корня. У растений обоих культур, семена которых были обработаны бактериями, сырая масса корней и побегов была больше (как в присутствии ТМ, так и в дистиллированной воде), чем у необработанных. Отмечено, что в присутствии ТМ в среде выращивания в тканях растений происходило накопление МДА, что, вероятно, может свидетельствовать о повреждении клеточных мембран. В корнях этот процесс шел более интенсивно. Концентрация продуктов ПОЛ в тканях растений повышалась с ростом ТМ в среде прорастания. У растений пшеницы и горчицы, семена которых были инокулированы клетками бактерий *B. subtilis* штамма 26Д, при воздействии металлов (как при низких концентрациях, так и при высоких), отмечено более низкое содержание МДА в тканях корней и побегов, по сравнению с необработанными. Таким образом, было выявлено, что кадмий и никель с увеличением концентрации подавляли рост пшеницы и горчицы и индуцировали накопление в тканях растений продуктов ПОЛ. Растения, обработанные бактериями, имели более низкие показатели повреждения мембран, чем необработанные, что свидетельствует о меньшей степени развития в их тканях под действием ТМ окислительного стресса.

ЗНАЧЕНИЕ ФАКТОРОВ МИНЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ В ОБЕСПЕЧЕНИИ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ К ВОЗДЕЙСТВИЮ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

The role of mineral nutritional factors in ensuring plants tolerance to heavy metals

Кучаева Л.Н., Ву Вьет Зунг, Осмоловская Н.Г.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; natalia-osm@mail.ru

Исследование ответных реакций растений на воздействия тяжелых металлов позволяет говорить об их разностороннем повреждающем действии на растительный организм и множественных нарушениях физиологических процессов. При этом одной из менее изученных сторон в проблеме токсичности тяжелых металлов является анализ характера их действия на минеральный обмен в растениях, а также роль условий минерального питания в проявлениях устойчивости растений к действию металлов. Одним из показателей устойчивости растений к стрессу является поддержание параметров внутреннего ионного гомеостаза. В этой связи нами было исследовано влияние Cd на содержание ионов калия и кальция в органах растений фасоли, бобов, рапса и амаранта в условиях водной культуры и оценка степени зависимости регистрируемых нарушений от параметров состава среды. В 7 сут экспериментах, выполненных на 21-дн растениях *фасоли Phaseolus vulgaris* L. сорта Сакса без волокна и овощных бобов *Vicia faba* L. сорта Русские черные и 35-дн растениях рапса *Brassica napus* L. сорта Вестар и амаранта хвостатого *Amaranthus caudatus* сорта Kawa dauta было показано, что Cd в концентрации 10, 30 и 100 мкмоль/л вызывает серию нарушений в обмене минеральных ионов, прежде всего K^+ и Ca^{2+}, а также NO_3^- и SO_4^{2-}, что проявлялось сильнее на фоне разбавленного (0,2н) в сравнении с полным (1н) питательным раствором. В растениях фасоли и бобов при воздействии 30 мкМ Cd на фоне острого дефицита питательных элементов в среде отмечено резкое, вплоть до 95% снижение содержание K^+ в корнях, очевидно вызванное стимуляцией кадмием «утечки» калия из корней ввиду его повреждающего действия на клеточные мембраны. Отток K^+ снижался или предотвращался внесением в среду 1 или 10 мМ Ca в форме $CaSO_4$. Содержание Ca^{2+} в корнях, особенно в водонерастворимой форме, также снижалось в присутствии Cd, однако его концентрации в нижних и средних листьях в водорастворимой форме возрастали, что указывает на возможное вытеснение кадмием кальция из мест его связывания в корнях и усиление оттока в надземные органы. У растений рапса в условиях полной обеспеченности макроэлементами под действием 100 мкМ Cd отмечено незначительное снижение содержания K корнях при слабом возрастании его транспорта в побег, тогда как в условиях дефицита макроэлементов обе тенденции были выражены намного сильнее. Как и в отношении других растений, Cd у рапса усиливал перенос Ca к листьям, что в условиях полной обеспеченности макроэлементами сопровождалось снижением аккумуляции Ca в корнях. Сходные тенденции выявлены и у растений амаранта, при этом нарушения K и Ca гомеостаза, мало значительные при 30 мкМ Cd, резко усилились при 100 мкМ Cd, что выразилось в падении уровня K в корнях на 75% при одновременном снижении в них уровня Mg и повышении содержания Ca. Роль Ca как антагониста Cd продемонстрирована в опытах с выдерживанием растений бобов на растворе с 30 мкМ Cd и Ca в концентрациях 0, 1 или 10 мМ. Аккумуляция Cd в корнях снижалась в 1,5 раза на фоне 1мМ Ca и в 10 раз на фоне 10 мМ Ca. Гистохимический анализ с использованием дитизона выявил ограничение области окрашивания тканей корня при действии 10 мМ Ca почти исключительно зоной флоэмы, что позволяет полагать, что Ca препятствует связыванию Cd в клетках коры и его поступлению в ксилему, провоцируя перераспределение Cd и его накопление в тканях стели. В экспериментах с воздействием 30 и 100 мкМ Cd на растения рапса и амаранта также показано накопление Cd преимущественно в корнях. При этом 10-кратное снижение концентраций макроэлементов в среде сопровождалось увеличением аккумуляции Cd в корнях рапса в 1,4 раза, но снижением в 2-3 раза переноса Cd в надземные органы. В этой связи для Cd^{2+}, поглощаемого с использованием транспортных механизмов других катионов (в том числе Ca^{2+} и Mg^{2+}), условия минерального дефицита очевидно обеспечивают снижение конкурентного и протекторного действия последних. В экспериментах, выполненных на растениях амаранта, показано, что умеренный дефицит всех элементов или только Ca (0,1н) на фоне достаточной обеспеченности калием приводит к увеличению аккумуляции Cd в корнях одновременно со снижением его переноса в надземные органы, тогда как дефицит K на фоне повышенного уровня Ca, напротив, способствовал ограничению накопления Cd в корнях. Установлено, что устойчивость растений к действию кадмия, реализуемая через ограничение поступления металла в органы растений, во многом определяется фактором кислотности среды. Показано, что при увеличении pH среды с 4,5 до 6,9 приток и аккумуляция Cd в корнях рапса и амаранта в условиях воздействия 100 мкМ Cd возрастали в среднем на 15% и 40%, в то время как перенос Cd в надземные органы на фоне нейтрального pH резко тормозился. Помимо доступности катионов и величины pH не менее важная роль в устойчивости растений к ТМ принадлежит форме источника азота в среде. В 3 сут модельных экспериментах с использованием 5 мМ растворов KNO_3 и $(NH_4)_2SO_4$, выявлена стимуляция накопления Cd и Zn в корнях рапса на 60% и 70% соответственно под действием NH_4^+ в сравнении с NO_3^- при отсутствии эффекта в отношении переноса этих металлов в надземную часть растений. Заключается, что совокупное воздействие ряда факторов минерального питания в среде обитания растений может быть существенным для реализации их ответных реакций и устойчивости в отношении действия ТМ.

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА ЭПИН-ЭКСТРА НА РОСТ И РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ СОРТА ХЕРСОНСКАЯ НА НАЧАЛЬНЫХ ЭТАПАХ ОНТОГЕНЕЗА

The effects of Epin-extra on the growth and development of the wheat cv. Hersonskaya at the early stages of ontogenesis

Кучер Е.Н., Чмелева С.И., Фурсова А.И., Цветкова А.А., Шплихалова А.В

Таврическая Академия Федерального государственного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
evgenia.kucher@gmail.com

В повышении продуктивности сельскохозяйственных культур в настоящее время значительную роль играет применение экологически безопасных регуляторов роста и развития растений. К современным препаратам, созданным на основе биологически активных веществ, относится Эпин-экстра, использующийся в качестве мощного ростостимулятора и антистрессового адаптогена. Функцию активного начала в препарате выполняет синтетический эпибрассинолид, который повышает приспособляемость организма за счет более полной реализации резервов генома, что обеспечивает гармоничный рост и развитие растения на всех стадиях онтогенеза и более высокую урожайность.

Пшеница озимая Херсонская принадлежит к высокопродуктивным сортам. Это злак, который выращивается интенсивным способом, дает высокие урожаи. Однако, комплекс экологических факторов, характеризующих природные условия Крыма, не позволяет в полной мере реализовать резерв генома сорта. Изучение аспектов влияния препарата Эпин-экстра на злаковые культуры позволило выявить его антистрессовый характер в повышении устойчивости растений к целому ряду негативно воздействующих природных и антропогенных факторов среды.

С целью изучения влияния препарата Эпин-экстра на рост и развитие пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Херсонская, подготовленные семена замачивали в растворах препарата Эпин-экстра различной концентрации на 4, 8 и 12 ч. Применяли предпосевную обработку растворами препарата в концентрациях: 0,01; 0,025; 0,05; 0,1 и 0,2 мг/л. Контролем служили семена, предварительно замоченные в отстоянной водопроводной воде. Семена проращивали в термостате типа ТС-80М-2 в темноте при температуре 20°С. Энергия прорастания и всхожесть семян определялись согласно ГОСТ 12038-84. Растения выращивали на водной культуре (среда Прянишникова) в вегетационных сосудах емкостью 1 л при естественном освещении и температуре 24-25°С. Все морфометрические измерения проводили по общепринятым в физиологии растений методикам в динамике на 3-и, 7-е, 14-е и 21-е сут. Определялись линейные размеры побега и корневой системы, площадь листовой поверхности.

В результате проведенных исследований было установлено, что во всех вариантах опыта замачивание семян в растворе Эпин-экстра повышало как энергию прорастания, так и на лабораторную всхожесть пшеницы сорта Херсонская, а также оказывало стимулирующее действие на рост и развитие растений на ранних этапах онтогенеза. Наиболее эффективной по влиянию на изучаемые показатели является предпосевная обработка раствором препарата концентрацией 0,025 мг/л в течение 4 ч.

Полученные данные могут стать основанием для разработок способов применения препарата Эпин-экстра в практике сельского хозяйства с целью повышения посевных качеств семян и регуляции роста растений на начальных стадиях развития.

ВЛИЯНИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ И СИНТЕТИЧЕСКИХ ЛИГАНДОВ НА ПОГЛОЩЕНИЕ ИОНОВ МЕДИ КЛЕТОЧНЫМИ СТЕНКАМИ КОРНЕЙ РАСТЕНИЙ

Effects of organic and synthetic ligands on the copper binding properties of root cell walls

Кушунина М.А., Николаева Ю.И., Мейчик Н.Р.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия; mkushunina@gmail.com

В настоящее время большое число исследований посвящено влиянию органических лигандов на поглощение, транслокацию и накопление ионов меди, однако тонкие механизмы этих явлений до сих пор не установлены. Известно, что поглощение Cu^{2+} корнями растений сопровождается их связыванием с органическими веществами, поскольку свободные (гидратированные) ионы Cu^{2+} являются токсичными. Установлено, что внутриклеточными хелаторами Cu^{2+} являются, в основном, металлошапероны и фитохелатины, а в апопласте и ксилемном соке ионы Cu^{2+} связаны с аминокислотами (гистидин, глутамин, аспарагин), а также никотианамином и карбоксильными группами полигалактуроновых кислот в составе пектинов клеточной стенки. В настоящее время активно ведутся исследования по поглощению растениями ионов тяжелых металлов в присутствии синтетических хелаторов, в частности, этилендиаминтетрауксусной кислоты (EDTA), которая образует стойкие комплексы с катионами металлов, включая Cu^{2+}. В то же время, отсутствуют данные по изменению способности клеточных стенок к адсорбции Cu^{2+} в присутствии EDTA и аминокислот, которые важны для понимания механизмов поглощения и перемещения металла в растении. Цель данной работы состояла в установлении влияния гистидина (His), глутамина (Gln) и EDTA на способность изолированных клеточных стенок корней пшеницы (*Triticum aestivum* L.) и маша (*Vigna radiata* (L.) R.Wilczek) связывать ионы меди.

Эксперименты были проведены на изолированных клеточных стенках корней 10-дневных растений, выращенных в условиях водной культуры на питательных растворах с концентрацией меди 0,5 мкМ. Методика выделения клеточных стенок (КС) без гомогенизации и высушивания материала позволила сохранить исходную архитектуру тканей корня. Сорбционную способность (S^{Cu}) клеточных стенок корней определяли по сорбции ионов меди из растворов $CuCl_2$ (10 мкМ, pH 5,0±0,1) с добавлением различных концентраций Na_2EDTA, L-His или L-Gln (0,010 – 5 мМ) в течение 24 ч. S^{Cu} контрольных образцов КС пшеницы и маша (по сорбции из 10 мкМ раствора $CuCl_2$, pH 5,0±0,1) – 24,4±5,9 и 48,7±4,9 мкмоль Cu/г сухой массы КС, соответственно. Ниже приведены результаты расчетов относительного увеличения или уменьшения в S^{Cu} КС по сравнению с контролем.

Установлено, что и у пшеницы, и у маша присутствие в растворе EDTA значительно снижает способность клеточных стенок корней связывать Cu^{2+}. При концентрации EDTA 10, 50 и 100 мкМ у пшеницы Cu-связывающая способность КС снизилась в 5,6, 15, и 40,5 раза соответственно, а у маша –в 2,8 раза при 10 мкМ и в 190,6 – при 100 мкМ, т.е. в последнем случае наблюдается практически полное отсутствие адсорбции.

Показано, что в присутствии гистидина S^{Cu} КС корней снижается, у пшеницы этот показатель уменьшается в 2 раза уже при 100 мкМ His в растворе, а у маша снижение (на 20%) наблюдается только при 1 мМ. Интересно, что в присутствии 100 мкМ EDTA снижение S^{Cu} КС маша было намного более резкое, чем у пшеницы, а в присутствии той же концентрации His – наоборот. При максимальной использованной концентрации His (5 мМ) S^{Cu} КС маша снижена в 4,7 раза, S^{Cu} КС пшеницы – в 13,2 раза.

Определено, что присутствие в растворе глутамина в концентрациях до 1 мМ не влияет на медь-связывающую способность КС корней обоих растений. Увеличение концентрации Gln до 5 мМ снижает S^{Cu} КС корней пшеницы почти в 2 раза, но не оказывает влияния на S^{Cu} КС корней маша.

В соответствии с данными литературы максимальная концентрация His в ксилемном соке составляет 1 мМ, при этом S^{Cu} КС снижена в 5,7 раз (пшеница) и 1,2 раза (маш). Для Gln указывается максимальная концентрация 0,7 мМ, которая, согласно нашим результатам, не оказывает влияния на S^{Cu} КС пшеницы и маша. Известно, что в ряду Cu-EDTA – Cu-His – Cu-Gln – Cu-OOC-R (Cu-OOC-R – комплексы меди с полигалактуроновыми кислотами) стабильность комплексов убывает, что согласуется с нашими данными о влиянии EDTA и гистидина на S^{Cu}. Однако, несмотря на то, что константа устойчивости комплексов Cu-Gln выше, чем для комплексов меди с полигалактуроновыми кислотами, отсутствие снижения S^{Cu} при физиологических концентрациях Gln свидетельствует о том, что в апопласте растений и, в частности, в сосудах ксилемы подавляющая часть ионов меди связана не с глутамином, а с КС. Данное утверждение справедливо также для гистидина в случае растений маша. Это находится в некотором противоречии с представлениями о том, что подавляющая часть Cu^{2+} связана с этими аминокислотами при транспорте по апопласту. В то же время EDTA может оказывать существенное влияние на поглощение и транспорт ионов меди в растениях как пшеницы, так и маша, препятствуя адсорбции Cu^{2+} в КС.

ИЗМЕНЧИВОСТЬ НЕКОТОРЫХ МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ *PLANTAGO MAJOR* L. В УСЛОВИЯХ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ

Variability of some morphological and physiological parameters of *Plantago major* L. under anthropogenic stress

Лабутина М. В.

ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный педагогический институт им. М.Е. Евсевьева», Саранск, Россия; labutina-m@mail.ru

Биоиндикация загрязнений – перспективный подход к оценке экологического состояния окружающей среды, включающий в себя ряд удобных, дешевых и информативных методов, основанных на изучении реакций организмов, возникающих в ответ на антропогенное развитие. Для выявления разных загрязняющих веществ используются разные виды растений индикаторов: для общего загрязнения – лишайники и мхи, для загрязнения тяжелыми металлами – слива, подорожник и фасоль, диоксидом серы – ель и люцерна, аммиаком – подсолнечник, сероводородом – шпинат и горох, полициклическими ароматическими углеводородами – недотрога и другие. Поэтому, зная основные характеристики растений–индикаторов, можно определить уровень загрязнения окружающей среды.

Проблема загрязнения среды характерна и для г. Саранска. В Саранске за один год на один квадратный метр территории выпадает 646 г загрязняющих веществ и практически вся территория города характеризуется аномальным содержанием металлов в верхнем слое почв (особенно свинца). Существуют территории с содержанием в почве свинца в 3-10 раз выше фоновых концентраций. Наиболее сильное и стабильное загрязнение свинцом характерно для территорий заводов СЭЛЗ и СИС-ЭВС, а также для микрорайона «Северный». Достаточно существенно загрязнены почвы центрального района города и микрорайон «Заречный».

В работе проведено изучение изменчивости некоторых морфометрических параметров *Plantago major* L. в условиях различной антропогенной нагрузки и показана возможность их использования для оценки состояния окружающей среды. Для этого в разных по антропогенному загрязнению районах города было выбрано шесть модельных площадок, на которых была определена пространственная и возрастная структура, биометрические параметры (среднее число листьев, длина колоса, ширина и длина листа). Одновременно проводилось изучение содержания свинца в растениях подорожника и почве с данных участков.

Из полученных нами данных за вегетационный период 2013 г. видно, что содержание свинца в растениях *P. major* тесно коррелирует с содержанием свинца в почве. На площадках с высоким содержанием свинца (площадки № 3 и № 4) отмечалось меньшее число растений, достоверно уменьшались размеры и число листьев, высота цветоносов.

Изучение вариативной изменчивости некоторых морфологических признаков подорожника в условиях разного техногенного воздействия показало, что изученные признаки изменялись незначительно. Наибольшей вариативностью обладают такие признаки как количество растений на площадке – от 3,3 до 15,2%, количество листьев на растении – от 7,3 до 23,2%. В очень малых пределах изменялась длина и ширина листа подорожника по всем площадкам.

Выявлено, что величина вариативной изменчивости по числу растений на площадке увеличивается в условиях возрастания антропогенного воздействия (на участках № 3 и № 4) и уменьшается в относительно чистых условиях. По числу листьев на растении отмечается обратная зависимость: в условиях повышенной техногенной нагрузки коэффициент изменчивости уменьшается.

В целом результаты исследования показали, что все исследованные участки в той или иной степени подвержены антропогенному воздействию. В условиях города *Plantago major* L. показывает себя высоко устойчивым растением, но все же испытывает определенный стресс, проявляющийся в изменении некоторых жизненных показателей.

РОЛЬ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ДЕЙСТВИЯ ТЕМПЕРАТУРНОГО ФАКТОРА В УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ К ЗАРАЖЕНИЮ ПАТОГЕНАМИ

Role of the duration of temperature factor in plant resistance to infection by pathogens

Лаврова В.В., Шерудило Е.Г., Матвеева Е.М.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия; VVLavrova@mail.ru

Характер взаимоотношений растений с патогенными организмами в значительной степени зависит от факторов окружающей среды, в частности температуры, которая во многом обуславливает адаптацию организмов и возможность их существования. Под влиянием температуры изменяется направленность физиолого-биохимических процессов в организме растения, что может приводить к активизации либо ослаблению защитных реакций в ответ на последующее заражение, а, соответственно, проявлению восприимчивости или устойчивости к паразиту. Поскольку действующая в природе температура является многопараметрическим фактором среды, и результат ее влияния зависит от величины и продолжительности воздействия, то особый интерес представляют изменения, происходящие в растениях, подверженных до заражения температурному стрессу разной продолжительности. В связи с этим целью работы являлось изучение влияния кратковременного и длительного действия температуры на проявление устойчивости растений к паразитарной инвазии.

Исследование проводили на модельной паразитарной системе «картофель – картофельная цистообразующая нематода». Материалом для исследования служили растения *Solanum tuberosum* L. (с. Невский); которые заражали паразитической нематодой *Globodera rostochiensis* Woll., патотип Ro1 – узкоспециализированным корневым эндопаразитом картофеля, внесенного в международный список карантинных организмов. Клубни картофеля проращивали стандартным способом, высаживали и выращивали в камере искусственного климата при 23°С, фотопериоде 16 ч, освещенности 10 клк и поливе питательным раствором (pH 5,5-5,6). По достижении фазы 3-х листьев часть растений оставляли при 23°С (вариант контроль), вторую часть подвергали в течение 6 суток ежесуточным снижениям температуры (с 23 до 5°С) на 2 ч в конце ночного периода (вариант ДРОП), третью часть растений выдерживали в течение 6 сут при постоянной низкой температуре (5°С) (вариант ПНТ). На следующий день после завершения температурных обработок растения всех вариантов заражали нематодой путем внесения цист (10 цист/раст.) в прикорневую зону и далее выращивали 1,5 месяца. Анализ морфофизиологических показателей (рост, развитие, биомасса, содержание пигментов, показатели флуоресценции) проводили на 0 сут (сразу после завершения температурных обработок); на этапах проникновения личинок нематоды в корни растений, их активного питания и развития (3, 6 и 20 сут после заражения). Устойчивость растений к нематоде оценивали по коэффициенту размножения нематоды (число цист нового поколения).

Анализ зараженности корней цистами нематоды новой генерации показал повышение нематодоустойчивости растений под влиянием низкотемпературных предобработок. Однако степень этих изменений зависела от продолжительности воздействия температуры. Уровень зараженности растений при кратковременных ежесуточных воздействиях температуры (вариант ДРОП) снизился на 75%, в то время как при постоянной низкой температуре (вариант ПНТ) - только на 25% по сравнению с контролем. Это связано с различным функциональным состоянием растений после кратковременных и длительных низкотемпературных обработок на момент их заражения нематодой, когда личинки проникают в растительную ткань и проходят эндодермальный этап своего развития (этап полной метаболической зависимости от хозяина), оказывая наибольшее влияние на жизнедеятельность растений. Последние, в свою очередь, должны адекватно ответить на атаку нематоды выработкой защитных реакций. Растения варианта ПНТ характеризовались снижением интенсивности процессов накопления биомассы, торможением роста, пониженным содержанием фотосинтетических пигментов и низкой фотохимической активностью реакционных центров фотосистемы II. На фоне пониженного физиолого-биохимического статуса растительный организм не способен переключить некоторые метаболические реакции с биосинтеза соединений конститутивного обмена на синтез защитных соединений, необходимых для формирования устойчивости к паразиту. Кратковременное воздействие низкой температуры (ДРОП) способствовало поддержанию физиологических процессов (рост и развитие, соотношение биомасс надземных и подземных органов) на уровне контроля, а также сохранению высокой активности фотосинтетического аппарата растений в условиях заражения. Такие растения обладали высоким метаболическим статусом, обеспечивающим возможность своевременной индукции системы защиты на заражение, что негативно отразилось на развитии паразита. Таким образом, полученные данные позволяют выявить особенности взаимоотношений растений и нематоды при действии температурного фактора. Кратковременное низкотемпературное воздействие инициирует эффективную подготовку растений к последующим стрессовым условиям и, тем самым, способствует развитию индуцированной устойчивости к фитопаразитической нематоде.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств: федерального бюджета на выполнение государственного задания (№ 0221-2014-0004) и РФФИ (проект № 15-04-04625).

БЕЛКИ 4/1 – НОВЫЕ ВОЗМОЖНЫЕ УЧАСТНИКИ ТРАНСПОРТА МАКРОМОЛЕКУЛ В РАСТЕНИЯХ

4/1 proteins: new potential players in macromolecular transport in plants

Лазарева Е.А.[1], Атабекова А.К.[1], Соловьев А.Г.[2], Морозов С.Ю.[2]

[1] Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия; lazareva-katrina@mail.ru
[2] НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

В двугибридной дрожжевой системе при скрининге кДНК библиотеки *Arabidopsis thaliana* против транспортного белка (NSm) вируса пятнистой гнилостности томатов (ВПГТ) был обнаружен белок с неизвестной функцией, названный At-4/1 (von Bargen *et al.*, 2001). В нашей лаборатории была клонирована полная кДНК, кодирующая последовательность белка ортолога At-4/1 из растений *Nicotiana tabacum* (Nt-4/1). Белок Nt-4/1 представляет собой полипептид с молекулярной массой 29,6 кДа. С помощью физико-химических методов показано, что белок является α-спиральным и состоит из трех термостабильных доменов. Было показано, что белок Nt-4/1 под контролем 35S промотора, локализуется в структурах цитоплазмы и в ядре клетки. Показано, что белок Nt-4/1 взаимодействует с разными формами РНК, предпочтительно связывая молекулы, содержащие шпилечные структуры и несовершенные дуплексы, но не образует комплексов с ДНК. Были получены делеционные и точечные мутанты белка Nt-4/1, позволившие локализовать сайт связывания с РНК, включающий область положительно заряженных аминокислот в С-терминальном домене белка. Изучение биохимических свойств белка Nt-4/1, в частности РНК-связывающей активности, представляет большой интерес, поскольку ранее было обнаружено, что в растениях с вирус-индуцированным сайленсингом гена *Nt-4/1*, наблюдается значительное увеличение содержания РНК вироида веретеновидности клубней картофеля (ВВКК) в системных листьях. Полученные результаты наводят на мысль о регуляции белком Nt-4/1 дальнего транспорта вироида и/или клеточных двуспиральных РНК по проводящей системе растения.

Настоящая работа посвящена продолжению исследований взаимодействий белка Nt-4/1 с клеточными РНК, а также выявлению потенциальных белков-партнеров, взаимодействующих с Nt-4/1 с использованием моноклональных антител, дрожжевой двугибридной системы, а также бифункциональных реагентов.

КРИТИЧЕСКОЕ ПОДАВЛЕНИЕ ВСХОЖЕСТИ СЕМЯН ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ КОМПЛЕКСНОГО ЭЛЕКТРОФИЗИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

Critical suppression of spring wheat seed germination in the conditions of integrated electrophysical influence

Лазукин А.В.[1], Грабельных О.И.[2,3], Любушкина И.В.[2,3], Кириченко К.А.[2], Кривов С.А[1]., Нурминский В.Н.[2]

[1] *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Национальный исследовательский университет «МЭИ», Москва, Россия; lazukin_av@mail.ru*

[2] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия; grolga@sifibr.irk.ru*

[3] *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Иркутский государственный университет», Иркутск, Россия; estel_86@mail.ru*

С середины прошлого века известны методы применения ионно-плазменных технологий и электрофизических воздействий для улучшения качества посевного материала и модификации вегетирующего растения. В настоящее время наибольший интерес представляет воздействие различных видов газового разряда атмосферного давления (коронный, поверхностный, барьерный, высокочастотный) на посевной материал. Применение газового разряда при предпосевной обработке семян имеет ряд преимуществ перед используемыми в настоящий момент методами (такими как скарификация, обработка гормонами роста и рядом других): отсутствием расходных материалов при воздействии, долговечностью, надежностью, низкой энергоемкостью и производительностью. Однако результаты исследований, полученные при работе с различными видами и сортами растений, весьма неоднозначны, что затрудняет дальнейшее внедрение обработки газовым разрядом в практику сельского хозяйства и свидетельствует о необходимости детального изучения закономерностей воздействия продуктов разряда на различные культуры. В данной работе приводятся результаты экспериментальных исследований воздействия продуктов плазмы поверхностного диэлектрического барьерного разряда на всхожесть и проницаемость мембран семян яровой пшеницы.

В качестве источника комплексного электрофизического воздействия в данной работе использовался поверхностный диэлектрический барьерный разряд, развивающийся вдоль поверхности твердого диэлектрика во влажном (55-60%) воздухе атмосферно давления в отсутствии принудительного протока газа через зону обработки. В качестве диэлектриков (диэлектрического барьера) использовались поликарбонат и высокорундовая керамика (ВК-94) толщиной 1 мм. Электродная система состояла из ряда полосовых электродов шириной 1 мм и толщиной 50 мкм. Обратный электрод-подложка во всех случая заземлялся. К полосовым электродам прикладывалось синусоидальное напряжение от 2,4 до 3 кВ действующего. Частота питающего напряжения 14 кГц. Посевной материал размещался на поверхности массивного металлического электрода на расстоянии 10 мм от поверхности диэлектрического барьера. Электрод, на котором размещался посевной материал, либо был заземлен, либо находился под постоянным высоким положительным или отрицательным напряжением (для создания дополнительного ионного потока на поверхность семян). Постоянная составляющая электрического поля в промежутке не превышала 5,5 кВ/см для исключения разворота семян. Концентрация озона в рабочей зоне 2,5-3 г/м^3 (средняя по приложенному напряжению). Интенсивность излучения разряда по диапазонам УФ-А – 8 мВт/м^2, УФ-В – 3 мВт/м^2 для керамики и 0,5 мВт/м^2 для поликарбоната, УФ-С 0,4 мВт/м^2 для керамики и отсутствует для поликарбоната (УФ-радиометр ТКА ПКМ-12, значения средние по приложенному напряжению). Обработке подвергались семена яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) с. Новосибирская 29 урожая 2013 г.

В достаточно широком диапазоне изменения времени экспозиции (от 20 до 5 мин) посевного материала яровой пшеницы наблюдался равнозначный эффект по снижению всхожести относительно контрольной группы (с 74 до 54%). При наложении дополнительного постоянного напряжения, вне зависимости от вида полярности, всхожесть в обработанных группах снижалась до 49% (76% у контрольных). Для проверки известной связи между проницаемостью клеточных мембран и снижением всхожести обработанного материала были подготовлены вытяжки из семян (50 семян на 50 мл бидистиллированной воды, выдержка 14 ч). Проводимость вытяжки обработанных семян составила 19,39±0,61 мкс/см, а проводимость семян контрольной группы 19,51±0,85 мкм/см (кондуктометр ОК-104, измерение в десяти повторах).

Результаты проведенных исследований показали, что созданная комбинация электрофизических факторов воздействия, источником которых служит плазма поверхностного диэлектрического барьерного разряда, в рассматриваемых временах экспозиции, значительно снижает всхожесть посевного материала яровой пшеницы при сохранении проницаемости клеточных мембран на уровне контроля. Установление физиологических причин подобного ответа посевного материала на комплексное стрессовое воздействие позволит расширить границы применимости ионно-плазменных методов предпосевной обработки.

РАЗДЕЛЬНОЕ И СОВМЕСТНОЕ ДЕЙСТВИЕ КАДМИЯ И НИЗКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ НА РОСТ ЯЧМЕНЯ

Separate and combined effects of cadmium and low temperature on barley growth

Лайдинен Г.Ф., Казнина Н.М., Батова Ю.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия; laidinen@krc.karelia.ru

В северных регионах на техногенно-загрязненных территориях растения подвергаются одновременному воздействию нескольких неблагоприятных факторов внешней среды, среди них низкая температура и тяжелые металлы. Их раздельное действие на рост и развитие растений в настоящее время сравнительно хорошо изучено, но работ по их совместному влиянию на растения крайне мало. В связи с этим целью нашей работы явилось сравнительное изучение раздельного и совместного действия кадмия и низкой температуры на рост ячменя.

В качестве объекта исследования использовали проростки ярового ячменя (*Hordeum vulgare* L.) сорта Зазерский 85, выращенных на половинном растворе Кнопа с добавлением микроэлементов в камере искусственного климата при температуре воздуха 24°С, его относительной влажности 60–70%, освещенности 10 клк, фотопериоде 14 ч. По достижении 3-дневного возраста проростки подвергали воздействию кадмия (100 мкМ), низкой температуры (4°С) или их совместному действию (Cd 100 мкМ + 4°С), сохраняя прочие условия неизменными. После 4-дневной экспозиции у растений опытных вариантов измеряли длину корня, высоту побега и их биомассу. В качестве контроля использовали растения, выращенные при температуре 24°С. Содержание кадмия в корнях и побегах растений определяли методом инверсионной вольтамперометрии с использованием полярографа АВС-1.1 (Вольта, Россия).

Исследования показали, что и кадмий, и низкая температура вызывают торможение роста растений. При этом кадмий оказывает более сильное негативное влияние на рост корня по сравнению с побегом. Так, через 4 сут экспозиции прирост длины корня у растений опытного варианта оказался в 12 раз меньше, чем в контрольном варианте, тогда как прирост высоты побега – только в 2 раза. Заметно снизилась и биомасса корней (на 20%). Очевидно, отмеченный эффект связан с тем, что у растений-исключателей, к которым относится ячмень, корень является основным барьером на пути транспорта токсичных ионов в побег, и именно здесь аккумулируется наибольшее количество металла. Проведенный нами химический анализ подтвердил это – содержание кадмия в корнях составило 24,9 мкг/г сырой массы, тогда как в листьях – 16,5 мкг/г.

В отличие от кадмия низкая температура вызывала более выраженный ингибирующий эффект на рост побега по сравнению с корнем. В частности, у опытных растений прирост высоты побега был в 8 раз меньше, чем в контроле, а прирост длины корня – лишь в 1,4 раза. При этом и биомасса побега снизилась на 58% по сравнению с контрольными растениями, в то время как биомасса корней вообще оставалась на уровне контроля. Аналогичные данные, касающиеся влияния холодового закаливания на рост яровых злаков, имеются и в литературе. Авторы этих работ полагают, что это является адаптивной реакцией растений, направленной на их выживание в условиях пониженных температур.

При совместном действии кадмия и низкой температуры наблюдалось значительное торможение роста как корня, так и побега. Но степень ингибирования изученных показателей была практически такой же, как и при раздельном применении этих факторов. Например, прирост длины корня у растений опытного варианта оказался в 10 раз меньше, чем в контрольном варианте, а прирост высоты побега – в 7,3 раза. Биомасса корня и побега уменьшились на 11% и 54% по сравнению с контролем, соответственно. Важно, что при этом содержание кадмия в корнях растений было в 3,4 раза ниже по сравнению с действием только кадмия, а в побегах – в 72 раза. По-видимому, это связано с тем, под влиянием низкой температуры поглощение кадмия корнями и его транспорт в надземные органы замедляется.

Таким образом, из полученных результатов следует, что изученные стресс-факторы как при раздельном, так и при совместном действии вызывают торможение роста растений. Но если в присутствии кадмия ингибируется прежде всего рост корня, то под влиянием низкой температуры в большей степени замедляется рост побега. При совместном действии кадмия и низкой температуры тормозится как рост корня, так и рост побега, что свидетельствует о частичном суммировании негативных эффектов этих факторов. По-видимому, механизмы воздействия кадмия и низкой температуры на растения разные, хотя интегральным их проявлением является и в том, и в другом случае торможение роста.

ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА ПРОЦЕСС ДЫХАНИЯ *SOLANUM TUBEROSUM* В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЦЕЛОСТНОСТИ АКТИНОВОГО ЦИТОСКЕЛЕТА

The effects of salicylic acid on the respiration of *Solanum tuberosum* depending on the integrity of actin cytoskeleton

Ланцев В.Л., Пузина Т.И.

Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего профессионального образования «Орловский государственный университет», Орел, Россия; vic_lan@mail.ru

Салициловая кислота — регулятор роста фенольной природы активно исследуется в связи с многочисленными функциями в растительном организме. При этом надо отметить, что сведения о влиянии салициловой кислоты на процесс дыхания не многочисленны и противоречивы. Основное внимание уделяется ее участию в регуляции работы электронно - транспортной цепи митохондрий. Однако, важно изучить и качественные составляющие дыхательного обмена, которые, как известно, изменяются в связи с ростом, развитием и влиянием внешних условий. Показано, что структурная организация цитоскелета влияет на строение и функционирование митохондрий. Вместе с тем, практически не изучено действие регуляторов роста гормональной природы на процесс дыхания в зависимости от целостности элементов цитоскелета. Поэтому, целью данной работы было изучение действия салициловой кислоты на интенсивность дыхания, его функциональные составляющие и соотношение путей дыхательного обмена у растений картофеля в зависимости от состояния актинового цитоскелета. Исследовали растения картофеля сорта Удача, выращенные в почвенной культуре (вегетационный опыт), а также побеги возобновления (лабораторные условия). Обработку растений проводили через 15 суток после появления всходов 0,1 мМ раствором салициловой кислоты ("Sigma", США) и 0,01 мМ раствором дезорганизатора актинового цитоскелета цитохалазина Б ("Sigma", США) как раздельно, так и совместно. Контрольные растения опрыскивали водой. Интенсивность дыхания определяли по количеству выделенного углекислого газа с использованием прибора для наблюдения газообмена ("Физприбор", Россия). Показано, что деструкция актиновых филаментов почти на 50% снижает интенсивность дыхания, тогда как салициловая кислота — увеличивает почти на 30%. В условиях деполимеризации микрофиламентов салициловая кислота полностью снимала отрицательный эффект цитохалазина на интенсивность дыхания. Деструкция актинового цитоскелета снизила долю дыхания поддержания (R_m), обеспечивающего энергией структурную организацию и обновление веществ существующей биомассы растений. В этих условиях обогащение растений картофеля салициловой кислотой вызывало увеличение данной составляющей в общем дыхании. Использование специфического ингибитора гликолиза 30 мМ раствора NaF не повлияло на начальные пути дыхательного обмена в варианте с салициловой кислотой, тогда как цитохалазин увеличивал апотомическую составляющую. При совместном применении с цитохалазином Б салициловая кислота не изменяла его действие. Таким образом, полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что влияние салициловой кислоты на дыхательный обмен зависит от структурного состояния актинового цитоскелета. А именно, в условиях ненарушенных микрофиламентов салициловая кислота интенсифицирует дыхание, но не влияет на соотношение начальных путей дыхательного обмена. При их деструкции она снимает отрицательный эффект цитохалазина на интенсивность дыхания и дыхание поддержания (R_m), но не изменяет его действие на начальные пути дыхания.

РОЛЬ СИГНАЛЬНОГО БЕЛКА PII В РЕЦЕПЦИИ ГЛУТАМИНА В ХЛОРОПЛАСТАХ РАСТЕНИЙ

Role of PII signal protein in glutamine sensing in plant chloroplasts

Лапина Т.В., Минаева Е.С., Ермилова Е.В.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; ermilova@bio.spbu.ru

Для поддержания гомеостаза и роста организмов одной из ключевых является их способность определять клеточный статус азота. У микроорганизмов и растений аминокислота глутамин представляет собой один из основных метаболитов ассимиляции азота из неорганических субстратов. У бактерий ключевые функции в координированной регуляции центральных метаболических процессов выполняют сигнальные белки семейства P_{II}. Последние данные указывают на то, что P_{II}-трансдукторы, выявленные также у архей и растений, могут представлять одно из наиболее распространенных семейств сигнальных белков в природе.

У цианобактерий и в хлоропластах растений сигнальные белки P_{II} контролируют фермент *N*-ацетил-L-глутаматкиназу (NAGK), который регулирует синтез аргинина и формирование полиаминов. Нерешенным вопросом эволюции P_{II}–белков эукариот, включая охарактеризованные нами белки одноклеточных зеленых водорослей, было появление в их структуре удлиненного С-конца, функциональное значение которого было неясно.

Проведенный нами анализ кристаллической структуры P_{II} *Chlamydomonas reinhardtii* (CrP_{II}) выявил на С-конце участок, который был обозначен нами как Q-петля. По нашим данным, глутамин связывается с Q-петлей, изменяя в результате конформацию CrP_{II} на активную, в которой белок взаимодействует и активирует NAGK, обеспечивая таким образом контроль формирования орнитина, аргинина и запасания азота в целом. Выравнивание аминокислотных последовательностей P_{II}-белков высших растений продемонстрировало, что С-концевые остатки Q-петли являются частью консервативного мотива, присутствующего во всех последовательностях, за исключением семейства *Brassicaceae*. Q-петля P_{II}-белков у представителей семейства *Brassicaceae* содержит делецию, приводящую к утрате трех аминокислот, которые необходимы для изменения укладки Q-петли при связывании глутамина. Введение функциональной Q-петли восстанавливало способность рекомбинантного белка P_{II} *Arabidopsis thaliana* (сем. *Brassicaceae*) связывать глутамин.

Наличие консервативной Q-петли С-конца P_{II}-белков высших растений, не принадлежащих к сем. *Brassicaceae*, указывает на то, что глутаминовый сигналлинг может быть общей функциональной чертой P_{II} растений. Для проверки этого предположения, нами были получены рекомбинантные белки P_{II} у двух филогенетически удаленных представителей - *Physcomitrella patens* и *Oryza sativa*. Показано, что оба P_{II}-белка контролировали NAGK по глутамин-зависимому механизму. Таким образом, нами выявлен глобальный механизм восприятия глутамина в хлоропластах, который оказался общим для растений за исключением представителей сем. *Brassicaceae*. Выявление первого рецептора глутамина в хлоропластах открывает дополнительные перспективы для более глубокого понимания метаболизма азота у фотосинтезирующих организмов.

Работа выполнялась при финансовой поддержке РФФИ (№13-04-00087).

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ИУК И ОЛИГОСАХАРИНА (OS-RG) В ПРОЦЕССЕ ОБРАЗОВАНИЯ АДВЕНТИВНЫХ КОРНЕЙ

Interaction between IAA and oligosaccharine (OS-RG) in the formation of adventitious roots

Ларская И.А., Трофимова О.И., Горшкова Т.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук, Казань, Республика Татарстан, Россия; pzl@mail.ru

Изучено взаимодействие ауксина и олигосахарина естественного происхождения (СП~10) в процессе формирования адвентивных корней. Олигосахарин, выделенный из проростков гороха (5 мкг/мл) повышал количество корней, индуцируемых ИУК (3 мкМ) как на сегментах гипокотилей гречихи (*Fagopyrum esculentum* Moench), так и на эксплантах, полученных из листьев трансгенного (*rolB-GUS*) табака *Nicotiana tabacum* L. cv Petit Havana. Наибольший эффект достигался при краткосрочной обработке эксплантов олигосахарином до добавления гормона. Оптимальное время предобработки зависело от выбранной модельной системы и составляло от 1-2 ч до 5-24 ч для сегментов гипокотилей гречихи и эксплантов из листьев табака, соответственно. Внесение олигосахарина после ИУК не оказывало эффекта на количество корней, индуцируемых гормоном. Использование эксплантов из листьев трансгенного табака, содержащих репортерный ген *GUS*, под контролем ауксин-индуцируемого промотора гена *rolB* позволило выявить ответную реакцию эксплантов на гормон на ранних стадиях процесса формирования корней. Динамика глюкуронидазной активности (GUS-активности) при концентрации ИУК 3 мкМ, характеризовалась наличием двух пиков, которые, по всей вероятности, связаны с ключевыми точками в процессе формирования корней, когда ткани эксплантов реагируют на ауксин. Предобработка эксплантов из листьев табака олигосахарином вызывала как увеличение ИУК-индуцируемой GUS-активности, так и ускорение ответной реакции, а именно смещение первого пика активности к началу культивирования эксплантов, положение второго пика при этом не менялось. Гистологический анализ с использованием сегментов гипокотилей табака показал, что первый пик совпадает с образованием 5-6-слойных примордий, а второй - с появлением практически сформировавшихся корней. Таким образом, полученные данные указывают на то, что действие олигосахарина предшествует действию гормона на ранних этапах ризогенеза. Обсуждаются возможные механизмы взаимодействия ИУК и олигосахарина в процессе формирования корней.

Работа выполнена при частичной поддержке гранта РФФИ (14-04-01591).

ПЕРЕКИСЬ ВОДОРОДА И РАЗВИТИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ У РАСТЕНИЙ ПРИ АНОКСИИ И ПОСЛЕДУЮЩЕМ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ

Hydrogen peroxide and oxidative damage in plants under anoxia and post-anoxic oxidative stress

Ласточкин В.В., Емельянов В.В., Шиков А.Е., Чиркова Т.В.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия
viclast@list.ru

Живые организмы постоянно испытывают на себе влияние различных факторов окружающей среды. Растения, в силу своего прикрепленного образа жизни, особенно подвержены этим воздействиям. Одним из широко распространенных неблагоприятных факторов является кислородная недостаточность, которая наблюдается при затоплении растений, образовании ледяной корки на поверхности почвы при выращивании озимых злаков, создании асфальтовых покрытий в городах и т.д. С гипоксическим или аноксическим воздействием тесно связано влияние еще одного неблагоприятного фактора – окислительного стресса, который возникает сразу после действия кислородной недостаточности, когда растения вновь оказываются в условиях нормальной аэрации. В природе окислительный стресс – прямое следствие гипоксии и аноксии, поэтому устойчивые к кислородной недостаточности растения, по-видимому, должны обладать устойчивостью и к этому воздействию. Объектами исследования являлись 7-дневные проростки пшеницы (*Triticum aestivum*) и 10-дневные проростки риса (*Oryza sativa*). Пшеницу использовали в качестве неустойчивого, а рис – устойчивого к гипоксии растения. Количество супероксида определяли спектрофотометрическим методом с использованием акцептора электронов адреналина. Количество H_2O_2 определяли спектрофотометрическим методом при помощи ксиленового оранжевого. Определение перекисного окисления липидов ПОЛ осуществлялось по напкоплению малонового диальдегида.

В результате проведенных исследований было установлено, что исходный уровень продукции супероксид анион-радикала, как в побегах, так и в корнях риса был выше, чем у пшеницы. Под влиянием аноксии и у риса и у пшеницы в побегах и корнях наблюдалось некоторое снижение его продукции, связанное, по-видимому, с отсутствием кислорода в среде пребывания растений. При реаэрации у обоих растений продукция супероксидного анион-радикала постепенно нарастала, что было более заметно у пшеницы. У проростков пшеницы аноксия не приводила к существенному изменению в содержании пероксида водорода, тогда как у риса значительно снижало уровень его продукции. Во время реоксигенации у обоих растений уровень продукции пероксида водорода повышался. У пшеницы как в побегах, так и в корнях происходило резкое (5-кратное) увеличение продукции H_2O_2, которое сохранялось в течение всего времени экспозиции после длительных сроков аноксии. Продукция же пероксида в побегах и корнях риса при реаэрации незначительно превышала контрольные значения. Сопоставляя результаты определения содержания супероксидного анион-радикала и пероксида водорода, можно заключить, что изменения в уровне обеих активных форм кислорода (АФК) у растений, различающихся по устойчивости, были сходными. Однако, несмотря на более высокое содержание и супероксидного анион-радикала и H_2O_2 у риса, по сравнению с пшеницей, значительного накопления этих АФК при реаэрации у него не происходило. Полученные данные могут свидетельствовать о более эффективной работе у риса как систем продукции АФК, так и антиоксидантной системы, в частности каталазы и пероксидаз, участвующих в распаде пероксида водорода. Анализ процессов ПОЛ мембран растительных клеток показал, что в условиях аноксии у обоих растений наблюдается снижение уровня ПОЛ. В условиях реаэрации как в побегах, так и в корнях пшеницы и риса наблюдалось усиление процесса, более заметное у проростков пшеницы. После длительных сроков аноксии активация ПОЛ в побегах и корнях проростков пшеницы достигает своего максимального значения. Эти данные прекрасно согласуются с результатами, полученными нами при изучении продукции АФК, что свидетельствует в пользу нашей гипотезы накопления АФК с последующим их воздействием на клеточные мембраны у неустойчивого растения. Изучение уровня карбонилирования белков риса в условиях аноксии и реаэрации показало, что в побегах устойчивого растения его уровень сохранялся на относительно постоянном уровне. В корнях же наблюдалось некоторое увеличение содержания карбонилированных форм с последующим восстановлением до контрольного уровня. В побегах пшеницы была заметна тенденция к увеличению уровня окисления белковых молекул, которая имела место после небольшого снижения интенсивности окисления белков в условиях аноксии и краткосрочной реаэрации. В корнях пшеницы наблюдалась динамика, сходная с корнями риса, однако степень карбонилирования белковых молекул у пшеницы был выше, чем у риса. Таким образом, резкое накопление АФК в побегах и корнях пшеницы способствовало как окислительным процессам в клеточных мембранах растения, так и окислительной модификации внутриклеточных белков, что, по-видимому, приводит к разбалансировке внутриклеточных и мембранных процессов. Напротив, относительно постоянное содержание АФК в клетках риса позволяло сохранить относительно низкий уровень ПОЛ и воспрепятствовать окислительной модификации белков клетки.

Исследования поддержаны грантами РФФИ 12-04-01029, 14-04-32320 и 15-04-03090.

ЭФФЕКТЫ МОДИФИКАЦИИ МЕТАБОЛИЗМА АЗОТА У ТРАНСГЕННЫХ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ

Effects of modified nitrogen metabolism in transgenic forest trees

Лебедев В.Г.[1], Фасхиев В.Н.[1,2], Шестибратов К.А.[1]

[1] *Филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Пущино, Россия* vglebedev@mail.ru

[2] *Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия*

Азот является одним из основных элементов минерального питания и часто выступает в качестве лимитирующего фактора роста и развития растений. Изучение метаболизма азота в древесных растениях имеет большое значение как для фундаментальной науки, так и для практического применения. Глутаминсинтетаза является ключевым ферментом азотного обмена растений и усиление уровня ее экспрессии может привести к повышению эффективности использования азота и ускорению роста растений. С целью повышения продуктивности в растения трех генотипов осины (*Populus tremula*) и четырех генотипов березы (*Betula pubescens, B. pendula, B. nigra*) путем агробактериальной трансформации был перенесен рекомбинантный ген цитозольной формы глутаминсинтетазы GS1 из сосны обыкновенной.

Полученные трансгенные растения (по 5 линий одного генотипа осины и березы) и нетрансгенный контроль были высажены в сосуды с природной почвой и выращивались в течение четырех лет в условиях теплицы (2009-2010 гг.) и открытой площадки (2011-2012 гг.). Биометрический анализ 2-летних растений выявил у осины с геном GS1 увеличение высоты до 23%, а объема древесины – до 41% относительно контроля. Среди растений березы было идентифицировано две линии с ослабленным (на 25-31%) и одна линия с усиленным (на 41%) ростом. Объем древесины этих линий был на 26-49% ниже или на 74% выше по сравнению с контролем. Линии березы с ослабленным ростом отличались также «плакучим» фенотипом кроны и повышенным по сравнению с нетрансгенным контролем содержанием холоцеллюлозы (72% против 68%) и альфацеллюлозы (45% против 41%). В древесине трансгенных растений осины соотношение C:N изменилось в незначительной степени (до -10% от контроля), тогда как для березы отклонения были значительно более существенными (до -31%). Анализ либриформа трансгенных растений березы не показал изменений относительно контроля, тогда как у некоторых линий трансгенной осины наблюдалось увеличение ширины клеток (42,9 и 32,6 мкм по сравнению с 17,3 мкм у контроля) и толщины клеточной стенки (6,3 и 7,3 мкм по сравнению с 2,9 мкм у контроля), но длина клеток при этом не изменилась. Анализ листьев тепличных растений с помощью программы LAMINA выявил увеличение размеров и изменение формы у ряда линий осины и березы, соответственно, но при выращивании в условиях открытой площадки эти различия не сохранились.

Для определения возможного влияния трансгенных растений на почвенную экосистему в конце каждого вегетационного сезона проводилась оценка активности почвенных ферментов. Всего проанализировали активность 11 ферментов, включенных в циклы углерода, азота, фосфора и серы – β-глюкозидазы, полифенолоксидазы, нитратредуктазы, протеазы, уреазы, щелочной и кислой фосфатаз, арилсульфатазы, дегидрогеназы, целлюлазы и инвертазы. Различия между трансгенными и контрольными растениями были несущественными, за исключением нескольких линий, однако обнаруженные отклонения не воспроизводились в последующие годы.

С целью массового скрининга полученных трансгенных растений на различном азотном фоне 30 линий всех генотипов осины и березы с геном GS1, а также нетрансгенный контроль, были высажены в сосуды с искусственным субстратом (торф:перлит) и выращивались в 2014 г. в условиях открытой площадки. Всего в экспериментах участвовало около 300 растений осины и 500 растений березы, которые в ходе вегетации подкармливали растворами удобрений с содержанием азота 0, 1 или 10 мМ. Увеличение высоты в максимальной степени наблюдалось в вариантах без подкормки азота или подкормкой с минимальной концентрацией. Показана значительная видо- и генотипоспецифичность трансгенных растений осины и березы в реакциях на удобрение азотом, содержание в листовой ткани хлорофиллов *a*, *b*, каротиноидов, аммонийного и нитратного азота.

ПОЛУЧЕНИЕ СТРЕСС-УСТОЙЧИВЫХ ДЕКОРАТИВНЫХ РАСТЕНИЙ ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В ГОРОДСКОМ ОЗЕЛЕНЕНИИ

Obtaining tolerant ornamental plants for urban green spaces

Литвинова И.И., Гладков Е.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия; ilinalitvinova@gmail.com

Низкая жизнеспособность городских растений и высокая чувствительность к условиям повышенного содержания тяжелых металлов в окружающей среде, приводит к поиску и замене растений на более устойчивые сорта деревьев и кустарников. Однако среди декоративных травянистых растений очень сложно подобрать виды удовлетворяющие критериям городского озеленения, которые сочетают высокую декоративность и повышенную толерантность к загрязнителям.

Поэтому одним из путей решения проблемы является получение устойчивых сортов с помощью клеточной селекции.

Нами разработаны схемы клеточной селекции по получению *Chrysanthemum carinatum* Schousb., *Brachycome iberidifolia* Benth. устойчивых к 20 мг/л меди ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$ в пересчете на чистый металл). *Chrysanthemum carinatum* и *Brachycome iberidifolia* — однолетние, сложноцветные декоративные растения, отличающиеся большой продолжительностью цветения (с конца июня по сентябрь) и различной цветовой гаммой соцветий; используемые в клумбах, рабатках, миксбордерах.

Определение чувствительности и селективной концентрации меди для каллусных культур показала высокую чувствительность исследуемых растений. Так ингибирующие действие меди проявлялось уже при относительно невысокой концентрации – 10 мг/л (процент выживших каллусов – 72,8% у хризантемы килеватой, 86,1% у брахикомы иберисолистной). При увеличении содержания меди до 40-50 мг/л на 16-20 сутки значительная часть клонов, теряло жизнеспособность и морфогенную активность, каллусы желтели и становились менее плотными, оводненными. В качестве селективной выбрана концентрация меди 20 мг/л.

Схема клеточной селекции включала: культивирование каллусов на питательной среде с медью 20 мг/л, в течение 3 пассажей по 18 суток для хризантемы и 2 пассажа по 26 суток для брахикомы, регенерация и укоренение на питательных средах без токсиканта.

Полученные регенеранты, после клеточной селекции, тестировали на сохранение резистентности к концентрации меди – 20 мг/л. Показано, что все клоны сохраняли жизнеспособность, в отличие от исходных растений. При концентрации 20 мг/л через 30 суток наблюдалась 100% выживаемость побегов у обоих видов, у контрольных растений выживаемость составляла 24,6%, у хризантемы килеватой, 43,0% у брахикомы иберисолистной. Средний прирост за месяц у обоих растений был в 2 раза выше, чем у контроля и большинство образцов имело нормальную морфологию.

После клеточной селекции часть полученных регенерантов успешно адаптировано к почвенным условиям и получено первое поколение семян. Большинство растений не отличалось по морфологическим показателям от контрольных растений и имело декоративный вид. Однако у ряда регенерантов наблюдались некоторые аномалии в развитии. Например, у 3 из 10 высаженных клонов хризантемы килеватой выявлено замедление роста, вытянутость побега, у 1 из 6 зацветших растений наблюдалось уменьшение количества язычковых цветков.

Все регенеранты брахикомы иберисолистной так же сохраняли высокие декоративные качества, ростовые показатели были сопоставимы с контрольными. 8 из 12 высаженных в почву регенерантов зацвели, и только у некоторых растений наблюдалось уменьшение диаметра соцветий и менее насыщенный цвет. Однако это не оказывало влияние на декоративность растений, так как регенеранты образовывали большое количество соцветий за вегетационный период.

Таким образом, исследуемые растения оказались очень чувствительны к ионам меди в условиях *in vitro,* однако использование прямой схемы селекции и непродолжительного периода культивирования на среде с медью, позволило получить устойчивые линии исследуемых растений.

ПЛАЗМАЛЕММНАЯ H+-АТФАЗА В ОСЕВЫХ ОРГАНАХ СЕМЯН ПРИ ПРОРАСТАНИИ

Plasmalemma H+-ATPase in embryonic axes of germinating seeds

Литягина С.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; lityagina@mail.ru

Целью нашей работы является изучение активности плазмалеммной H^+-АТФазы в осевых органах семян кормовых бобов (*Vicia faba minor*) и конского каштана (*Aesculus hippocastanum*). У этих семян есть одно общее свойство: их прорастание осуществляется только за счет растяжения клеток, а деление клеток начинается в меристеме корня значительно позже.

Плазмалеммная H^+-АТФаза – фермент, который дефосфорилирует АТФ до АДФ и полученную энергию, в частности, использует на перенос H^+ из цитоплазмы через мембрану в апопласт. Можно предположить, что плазмалеммная H^+-АТФаза является ключевым ферментом, который осуществляет так называемый «кислый рост». «Кислый рост» - это результат действия поступивших H^+ на полимеры клеточной стенки, приводящее к ее разрыхлению и растяжению клеток.

Для того, чтобы оценить выделение H^+-ионов клетками при прорастании и росте, измеряли pH в растворе, в котором инкубировали осевые органы, извлеченные из семян. Оси, выделенные из набухающих семян (до влажности 66%) существенно не меняют pH окружающего раствора. Однако, когда осевые органы достигают влажности 68% и больше, они обладают способностью заметно подкислять окружающий раствор. Активное выделение H^+ предшествует началу растяжения клеток, т.е. наклевыванию. Рост растяжением после проклевывания также характеризуется усилением выделения протонов. Под действием фузикокцина (активатора протонной помпы) отмечается резкое усиление подкисления среды зародышевыми осями. Инкубация семян конского каштана и кормовых бобов в растворе фузикокцина или в кислом буфере ускоряла проклевывание и рост растяжением.

Ингибитор плазмалеммной H^+-АТФазы ортованадат (H_2VO_4) замедлял прорастание этих семян. В результате этих опытов с действием фузикокцина как специфического активатора H^+-АТФазы и ортованадата как специфического ингибитора можно сказать, что при прорастании семян, рост клеток растяжением в результате активации плазмалеммной H^+-АТФазы происходит по механизму «кислого» роста.

Белок плазмалеммной H^+-АТФазы был идентифицирован иммуно-химическим методом в микросомальной фракции из осевых органов при набухании и прорастании семян.

Работа поддержана грантом РФФИ № 14-04-31609.

«ЭФФЕКТ РАЗОБЩЕНИЯ» И УЧАСТКИ ИНГИБИРОВАНИЯ ЭЛЕКТРОН-ТРАНСПОРТНОЙ ЦЕПИ ФОТОСИСТЕМЫ 2 АНИОНАМИ ФТОРА

"Decoupling effect" and inhibition sites of photosystem II electron-transport chain by fluorine anions

Ловягина Е.Р., Семин Б.К.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия
Elena.Lovyagina@gmail.com

В мембранных препаратах фотосистемы 2 (ФС2), из которых экстрагирован катион кальция кислород-выделяющего комплекса (КВК), наблюдается «эффект разобщения» в отсутствие хелатора (Semin et al., 2008). Суть этого эффекта заключается в том, что экстракция катиона кальция приводит к полному ингибированию реакции выделения кислорода, однако электронный транспорт к искусственному акцептору электронов 2,6-дихлорфенолиндофенолу (ДХФИФ) при этом сохраняется на достаточно высоком уровне (около 60–70% скорости электронного транспорта в нативных препаратах ФС2). Механизм эффекта: каталитический центр КВК без кальция окисляет воду не до молекулярного кислорода, а до перекиси водорода, генерируя тем самым поток электронов (Semin et al., 2013). В частицах ФС2 без Ca^{2+} [ФС2(-Ca)] наблюдается также уширенный ЭПР сигнал S3, появляющийся в результате взаимодействия радикала Y_Z с катионами марганца. Известно также, что ЭПР сигнал S3 появляется и при обработке препаратов ФС2 ингибиторами КВК – анионами фтора, ацетатом натрия, хлоридом аммония. В представленной работе был исследован следующий вопрос – сопровождается ли появление сигнала S3 «разобщением» электронного транспорта. С этой целью были измерены концентрационные зависимости ингибирования анионами фтора (а также ацетатом натрия и хлоридом аммония) процессов выделения кислорода и восстановления ДХФИФ в нативных препаратах ФС2, которые показали наличие «эффекта разобщения» в области концентраций фтора 10–200 мМ. Полученные результаты продемонстрировали, что при сильном ингибировании реакции выделения кислорода каталитическим центром КВК (остаточная активность ФС2 около 30%) анионами фтора (100 мМ), эффективность ингибирования электронного транспорта (снижение скорости восстановления экзогенного акцептора электронов ДХФИФ) значительно меньше – около 70%. Для ацетата натрия и хлорида аммония эти концентрации были равны 500 мМ и 250 мМ, соответственно. Увеличение концентрации анионов фтора сопровождается увеличением степени ингибирования не только реакции выделения кислорода, но и реакции восстановления ДХФИФ. Ингибирующее действие анионов фтора на выделение кислорода обратимо. Данный факт свидетельствует о том, что «эффект разобщения» не определяется экстракцией периферических белков PsbQ и PsbP. Нами было также установлено, что ингибирующий эффект анионов фтора подавляется анионами хлора. С целью исследования механизма действия анионов фтора на электронный транспорт в ФС2 мы изучили влияние анионов фтора на электронный транспорт в частицах ФС2 без кальция, которые не выделяют кислород, но могут окислять воду до промежуточного продукта (перекиси водорода) и, соответственно, обеспечивать светоиндуцированный поток электронов в ФС2(-Ca). В проведенных экспериментах нами было обнаружено, что анионы фтора ингибируют восстановление ДХФИФ в частицах ФС2(-Ca), однако, ингибирование реакции образования продукта окисления воды (перекиси водорода) при этом не наблюдается. Полученные результаты позволяют предполагать следующий механизм ингибирующего действия анионов фтора на функциональную активность ФС2. На первоначальном этапе (до 50 мМ NaF) анионы фтора инактивируют катион кальция, взаимодействуя непосредственно с ним (образуя соль плавиковой кислоты) или разрушая функционально активную структуру водородных связей вокруг катиона кальция. При более высоких концентрациях анионы фтора начинают вытеснять анионы хлора, связанные на донорной стороне ФС2. Вытеснение связанных анионов хлора сопровождается увеличением окислительно-восстановительного потенциала акцептора электронов Qa, что приводит к ингибированию восстановления ДХФИФ. Подтверждением данной гипотезы могут служить опубликованные в литературе результаты, демонстрирующие, что экстракция катиона кальция из КВК или периферических белков PsbQ и PsbP сопровождается значительным сдвигом величины окислительно-восстановительного потенциала E_o пластохинона Qa и, соответственно, ингибированием переноса электронов от Qa^- к Qb.

ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ цАМФ У СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР КАК ПОКАЗАТЕЛЬ СТРЕССА ПРИ ЗАГРЯЗНЕНИИ ПОЧВ ФТОРИДАМИ

Changes in the level of cAMP as stress indicator in field crops grown on soils contaminated with fluoride

Ломоватская Л.А., Соколова Л.Г., Кузакова О.В., Симакова А. А., Романенко А.С.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского Отделения Российской Академии Наук, Иркутск, Россия; LidaL@sifibr.irk.ru

Вопросам ранней диагностики устойчивости растений посвящено немалое количество работ, но, как правило, предлагаемая методология использует для оценки устойчивости единичный параметр, как то: скорость роста или содержание эндогенных сахаров. Такой подход не дает объективной оценки устойчивости растений к неблагоприятному фактору среды, поскольку отслеживает частные проявления защитных реакций растений. Для того, чтобы экстраполировать полученные в ранней диагностике результаты на взрослое растений в полевых условиях, требуется выбор параметров, в полной мере отражающих особенности метаболизма растения в предлагаемых условиях. Кроме того, желательно, чтобы эти параметры регулировали реализацию конститутивных механизмов устойчивости. Это относится к сигнальным системам растений, поскольку именно они уже на этапе восприятии сигнала дифференцируют его и обеспечивают соответствующий защитный ответ растительной клетки. Поэтому задачей данной работы было дать сравнительную оценку реакции аденилатциклазной сигнальной системы у проростков ряда сельскохозяйственных культур, выращенных на вытяжках из почвы с искусственно внесенным NaF и из почвы, загрязненной выбросами ИРКАЗа, а также тех же культур, выращенных на почвах с искусственно внесенным NaF и почвы, загрязненной выбросами ИРКАЗа. Кроме того, планировалось выявить наличие или отсутствие взаимосвязи между активностью этой системы и весом растительной массы.

Для экспериментов использовали семена следующих культур: районированный сорт яровой пшеницы *Triticum aestivum* L. (Тулунская-12), редька масличная *Raphanus sativus* (линия ИргСХА), ячмень яровой. Вытяжку получали из агросерой почвы («контроль»), вторая вытяжка была сделана из той же почвы, содержащей NaF (500 мг/г почвы – «NaF»), и третья вытяжка производилась из почвы, взятой из зоны загрязнения ИРКАЗа (содержание F 10 ПДК – «ИРКАЗ»). Семена проращивались 7 дней на каждой из вытяжек, затем определяли вес корней и листьев, а также содержание цАМФ отдельно в корнях и листьях. В поле растения выращивали в условиях мелкоделяночных опытов, где присутствовали те же варианты почв. В одном случае растительные пробы брали на стадии появления первых листьев, во втором случае на стадии полного созревания и сбора урожая. В обоих случаях определяли те же параметры, а именно общий вес листьев и корней, а также уровень цАМФ в корнях и листьях по отдельности.

Исследования показали, что все три культуры как в лабораторных экспериментах, так и в полевыхусловиях имели сугубо индивидуальный уровень цАМФ даже в контроле, то есть в условиях незагрязненной почвы. Несмотря на то, что абсолютные значения и уровень к контролю отличались, для каждой из культур прослеживалась определенная, характерная только для нее, тенденция. В соответствии с ней на почвенных вытяжках в вариантах «NaF» и «ИРКАЗ» уровень цАМФ в корнях проростков пшеницы оказался наименьшим по сравнению с другими культурами. В тоже время у взрослых растений пшеницы на стадии сбора урожая этот показатель был максимален. Следует отметить, что во всех вариантах экспериментов вес корней и листьев как проростков, так и взрослых растений пшеницы как минимум не опускался ниже контроля, а как максимум превышал его, особенно на стадии уборки урожая. При этом у ячменя и редьки масличной на фоне более высоких значений цАМФ в экспериментах с проростками, и резким его снижением у взрослых растений, наблюдались более низкие значения веса листьев и корней, что особенно заметно у ячменя. В литературе имеются сведения о том, что изменение концентрации цАМФ связано с уровнем устойчивости растений к биотическим стрессам. Чем выше его концентрация под воздействием биотического стресса, тем выше устойчивость растения. Однако при воздействии повышенных доз фторида можно говорить о наличии неспецифической устойчивости у различных полевых культур. Сопоставление изменения уровня цАМФ и веса растений позволяет предположить, что на стадии проростков ячмень и редька масличная испытывали более сильный и протяженный стресс, чем пшеница, которая в этот период уже перешла к адаптации. В пользу такого предположения свидетельствует наиболее высокий уровень цАМФ в органах растений пшеницы на стадии сбора урожая и вес, значительно превышающий контроль в сравнении другими культурами. Таким образом, можно предположить, что при неспецифическом стрессе понижение уровня цАМФ в органах растений не всегда является самостоятельным диагностическим признаком устойчивости растений. Вероятно, это связано с различиями и особенностями восприятия сигналов при биотическом и абиотическом стрессах.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 14-05-00735.

ВЛИЯНИЕ БИОПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ *PSEUDOMONAS* SP. НА РОСТ РАСТЕНИЙ ОГУРЦА

Effect of biological preparation on the basis of *Pseudomonas* sp. on the growth of cucumber plants

Лукаткин А.А., Лукаткин А.С.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева», Саранск, Россия
ussr1960@yandex.ru

На современном этапе развития биологии большое внимание уделяется внедрению в практику землепользования биотехнологий, замены агрохимикатов биологическими препаратами. Возрастает роль мероприятий, направленные на повышение биоразнообразия полезной почвенной микрофлоры. Взаимодействие растений с симбиотическими ризосферными микроорганизмами играет важную роль в развитии растений, обеспечивая их соответствующим питанием и регуляторами роста, защищая от патогенных микроорганизмов, адаптируя к стрессам. В последнее время отмечается интерес к микробиологическим препаратам, которые используются для повышения почвенного плодородия и продуктивности культурных растений, защиты их от фитопатогенной микрофлоры и вредителей, повышения качества урожая, снижения норм внесения минеральных удобрений и пестицидов. Новые формы микробиологических препаратов на основе эффективных штаммов полезных микроорганизмов находят все большее применение в сельскохозяйственной практике.. Определенные штаммы бактерий рода *Pseudomonas*, улучшающие рост растений и защищающие их от фитопатогенов, принято обозначать как PGPRP (Plant Growth Promotion Rhizosphere Pseudomonas) – ризосферные псевдомонады, стимулирующие рост растений. Достигнутые в последние годы успехи в изучении молекулярно-биологических механизмов конкурентных отношений между PGPRP и фитопатогенными микроорганизмами, а также механизмов взаимодействия PGPRP и растений позволяют по-новому взглянуть на проблемы биологической защиты.

Известно, что почва способна принять в себя популяции микроорганизмов, внесенные извне. Численность микробных популяций в почве регулируется главным образом за счет межпопуляционных взаимодействий и зависит от свойств почвы, количественного уровня внесения, стадии микробной сукцессии. Бактерии рода *Pseudomonas*, нанесенные на семена, способны успешно колонизировать ризосферу различных растений (пшеницы, картофеля, томатов, огурца и др.), поддерживая высокую численность – около 10^3¸10^5 КОЕ/г корней. Формирование комплекса ризосферной микрофлоры происходит в течение первых дней прорастания семян, дальнейшее продвижение PGPRP в более глубокие слои почвы обусловлено движением за растущим корнем. Состав экзометаболитов, выделяемых прорастающими семенами и корнями, может варьировать у различных генотипов растений, и такие различия могут оказывать заметное влияние на рост прикорневой микрофлоры. Корневые выделения оказывают либо ингибирующее, либо стимулирующее рост отдельных микроорганизмов действие метаболитов.

Целью работы явилось изучение влияния обработки семян огурца (*Cucumis sativus* L., гибрид «Успех 221») биопрепаратом, созданным на основе *Pseudomonas sp.*, на прорастание семян, рост растений, устойчивость к патогенной микрофлоре. В ходе эксперимента семена огурца замачивали в биопрепарате различной концентрации (разведение 1:200; 1:500; без разведения), в качестве контроля использовали водопроводную воду, затем проращивали на увлажненной фильтровальной бумаге. На 3-и и 7-е сутки измеряли энергию прорастания и всхожесть семян. Далее проростки высаживали в грунт, через 10 суток определяли размеры корневой системы и площадь листовой пластины. В модельных опытах проводили обработку растений фитопатогенными грибами (*Botrytis cinerea, Fusarium culmorum, Alternaria infectoria* и *Alternaria solani*) и вели наблюдение за развитием микроорганизмов.

Лучшие результаты по прорастанию семян огурца были получены при использовании биопрепарата в разведении 1:200, всхожесть семян составила 100% (в контроле – 93%). Рост растений огурца стимулировался PGPRP, наибольшие длина главного корня, объем корневой системы, и площадь листовой пластины огурца наблюдались при использовании предпосевной обработки биопрепаратом в разведении 1:200. Внесение в прикорневую зону растений фитопатогенных грибов приводило к появлению визуальных симптомов заболевания огурца. Однако в случае предварительной обработки биопрепаратом степень повреждения растений была заметно ниже.

Полученные данные показывают, что использование биопрепарата на основе *Pseudomonas sp.* способствует лучшему росту и повышенной устойчивости к грибным фитопатогенам растений огурца.

Работа выполнена в рамках выполнения конкурсного проекта Министерства образования и науки России (проект № 6.783.2014К).

ПРООКСИДАНТНО/АНТИОКСИДАНТНАЯ СИСТЕМА РАСТЕНИЙ ПРИ СТРЕССОРНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ РАЗЛИЧНОЙ ПРИРОДЫ

Prooxidative /antioxidative system in plants affected by different stressors

Лукаткин А.С. , Лукаткин А.А.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева», Саранск, Россия
aslukatkin@yandex.ru

Растения постоянно подвергаются воздействию разнообразных стрессорных факторов различной природы, которые интенсивно влияют на рост и развитие растений, в итоге существенно лимитируя общий урожай растений. Принято классифицировать стрессоры на абиотические, биотические и антропогенные, однако различия между ними, большей частью формализованные (по источнику воздействия), не всегда четко просматриваются. Среди абиотических стрессорных факторов особое место занимают климатические – в первую очередь водные и температурные, а также эдафические, где особую роль играют ионный состав и pH среды; среди биотических – действие патогенных организмов; среди множества антропогенных изменений среды обитания растений – действие ксенобиотиков и тяжелых металлов (ТМ). В свою очередь, повышенный уровень ТМ не обязательно может иметь антропогенный характер; зачастую формируются геохимические провинции с повышенным фоном тех или иных ионов металлов, в том числе ТМ, и тогда этот фактор следует рассматривать как эдафический. Несмотря на различную природу стрессоров, действующих на растения, ответная реакция последних часто носит сходный характер. Во второй половине XX века обсуждались аспекты специфичности и неспецифичности реакций растений на стресорные воздействия. Выдвигались различные гипотезы о природе наблюдаемых явлений, об общих закономерностях и особенностях ответов растений на стрессорные воздействия разной природы, о сущности специфических и неспецифических реакций растений на стрессоры, о сопряженной и конвергентной устойчивости, и т.п.

Параллельно развивавшиеся исследования позволили сформировать четкую картину нормального аэробного метаболизма растений, в котором постоянно происходит генерация активированных форм кислорода (АФК), таких как $O_2^{\cdot-}$, OH, H_2O_2; с другой стороны, антиоксидантная защитная система (включающая ферменты и неферментные антиоксиданты) эффективно гасит АФК и поддерживает их уровень на стабильно низких (неповреждающих) уровнях. Однако попадание растений в неблагоприятные внешние условия и неспособность преодолевать такие воздействия приводит к стрессовому состоянию. По отдельности или в комбинации, эти стрессы могут вызывать нарушения физиологических функций и тяжелые повреждения растений, прямо или непрямо запуская повышенное образование АФК и их реакционных продуктов. Хотя некоторый минимальный уровень АФК действует как важный трансдуцер сигналов и запускает или регулирует реакции растений на различные стрессоры, нарушение гомеостаза АФК/антиоксиданты в любых клеточных компартментах приводит к ситуации, называемой «окислительный стресс».

Проведенные нами и другими исследовательскими группами ранее и продолжающиеся в настоящее время комплексные исследования повреждения, устойчивости и адаптации растений к неблагоприятным факторам среды позволили констатировать, что все стрессорные воздействия в основе своей имеют нарушения прооксидантно/антиоксидантного равновесия в клетках растений. Любой стрессор индуцирует усиление генерации АФК, которые, исходно выполняя сигнальные функции, при значительном превышении уровней могут служить «пусковым механизмом» для запуска физиолого-биохимических изменений клеточных реакций, приводящих в итоге к нарушениям гомеостаза и повреждениям растений. Антиоксидантные системы растений прв стрессорных воздействиях, превышающих пределы надежности системы, резко инактивируются в результате повышенного уровня АФК. Клетка реагирует на внезапное изменение про/антиоксидантной системы усилением синтеза антиоксидантов (как низкомолекулярных, так и ферментативных), с тем, чтобы снизить уровень АФК. Однако эта антиоксидантная защита несколько запаздывает по времени относительно прооксидантной атаки, и в итоге, когда образованные *de novo* антиоксиданты эффективно гасят АФК, возвращая их уровень к дострессовому, запускаемая АФК цепь изменений метаболизма приводит к нарушениям, регистриуемым на различных уровнях организации. В зависимости от силы и длительности воздействия первичного стрессорного фактора, итоговые последствия (повреждения) могут быть репарируемыми или летальными. Эта схема показана при действии низко- и высокотемпературного стресса, засухи, засоления, ТМ, ксенобиотиков и других стрессорных воздействиях.

Работа выполнена в рамках выполнения конкурсного проекта Министерства образования и науки России (проект № 6.783.2014К).

ИНТРОНЫ ГРУППЫ 2 В ХЛОРОПЛАСТАХ: СПЛАЙСИНГ И ВЛИЯНИЕ НА НЕГО ТЕПЛОВОГО ШОКА И КАДМИЯ

Group II introns in chloroplasts: splicing and effect of heat shock and cadmium

Лысенко Е.А., Клаус А.А., Кузнецов В.В.

Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева Федерального агентства научных организаций, Москва, Россия; genlysenko@mail.ru

Существуют 4 основных типа интронов: бактериальные интроны групп 1 и 2, ядерные (сплайсосомные) интроны эукарит и особый тип интронов, удаляемый при помощи эндонуклеаз, встречающийся у архей. Интроны группы 1 и группы 2 присутствуют и в эукариотических клетках – в органеллах бактериального происхождения – в хлоропластах и митохондриях.

Принципиально организация интронов группы 1 и группы 2 и способ их удаления из РНК сходны. Однако интроны группы 1 и 2 имеют разные консервативные домены (6 у группы 1 и 10 у группы 2), отвечающие за их пространственную организацию и сплайсинг. Для обеих этих групп *in vitro* продемонстрирована возможность автосплайсинга. Ядерные интроны эукариот, по-видимому, происходят от интронов группы 2.

У наземных растений в пластидах имеется около 20 интронов, 1 из которых принадлежит к группе 1, а остальные – к группе 2. Известно более десятка белковых факторов, обеспечивающих сплайсинг интронов группы 2 в хлоропластах. Функция большинства из них является критической для обеспечения сплайсинга определенных интронов, а, как следствие, для формирования фотосинтетического аппарата и жизнеспособности растения. Поэтому эти факторы изучают, как правило, на модели кукурузы.

Если структурные особенности интронов группы 2 хлоропластов изучены относительно не плохо, то «прижизненная реализация» этого механизма изучена очень слабо. Остается не ясным как меняется эффективность сплайсинга с возрастом, с изменением условий внешней среды, в разных органах.

Мы изучили, как на эффективность сплайсинга влияют факторы стресса. Оказалось, что при повышении температуры (37, 42 градуса С) наблюдается подавление сплайсинга всех интронов группы 2 в белок-кодирующих генах хлоропластов кукурузы. Кадмий же в высокой (80 мкМ) и даже летальной концентрации (250 мкМ) не оказывал влияния на этот процесс.

РЕГУЛЯЦИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО ГОМЕОСТАЗА ЛИСТЬЕВ РАСТЕНИЙ ФИТОХРОМНОЙ СИГНАЛЬНОЙ СИСТЕМОЙ

Regulation of the oxidative-reductive homeostasis of plant leaves by the phytochrom signaling system

Любимов В.Ю., Креславский В.Д., Кособрюхов А.А., Ширшикова Г.Н., Шмарев А.Н.

ФГБУН Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук, Пущино, Россия
valyu@online.stack.net

Основными параметрами, определяющими ОВГ, является стационарный пул активных форм кислорода (главным образом O_2^- и H_2O_2), а также активность утилизирующих эти АФК ферментов. Под воздействием ряда экзогенных стрессоров происходит неспецифический, т.е. независимый от природы стрессора, вторичный окислительный стресс, который выражается в значительном росте уровня АФК в клетке. Пост-стрессовое увеличение АФК имеет, по крайней мере, два последствия для жизнедеятельности клетки: окислительное деструктивное и (O_2^- и H_2O_2)-сигналинговое, мобилизующее клеточные системы на защиту от последствий стресса. Помимо этого существуют эндогенные сигнальные системы, триггером которых не является стресс. Одним из таких механизмов является светозависимая фитохромная система. Из наших и многих других исследований известно, что активация $ФхВ_к$ *U* $ФхВ_{дк}$ приводит к минимизации отрицательного действия стрессоров. Поэтому целью настоящей работы было исследование возможного регулирования ОВГ фототрофных клеток фотосенсибилизированной фитохромной сигнальной системой ФхВк ^ $ФхВ_{дк}$ и специфичность/неспецифичность его в отношении стрессора. Эксперименты проводили на 3-х недельных проростках растений салата *(Lactuca sativa* L.), арабидопсис *(Arabidopsis thaliana,* экотип Columbia-0) и пшеницы *(Triticum aestivum* L.). Растения выращивали в контролируемых условиях. Использовали два стрессора: облучение УФ-А от лампы T8 18W BLB (X_{max}=365 нм, $\hat{}_{1/2}$=24 нм, I=8-12 Вт $м^{-2}$ в течение 40 мин) и водно-тепловую обработку листьев (T=40оС, 20 мин). Предварительное освещение красным светом (КС: ^ = 6 6 0 нм, $X_{1/2}$=*32* нм) осуществляли с помощью светодиодной панели, а дальним красным (ДКС: ^ = 7 3 0 нм, $\hat{}_{1/2}$=12 нм) светом - от лампы накаливания через интерференционный светофильтр. Активность общей пероксидазы измеряли спектрофотометрически, используя в качестве субстрата 3,3'-диаминобензидин-HCl, аскорбатпероксидазы - спектрофотометрически по убыли аскарбата, каталазы - стандартным спектрофотометрическим методом по убыли H_2O_2. Пероксид водорода измеряли биолюминесцентным методом. Скорость фотосинтеза измеряли на целых проростках инфракрасным газоанализатором Infralyt 4 в замкнутой системе при насыщающей интенсивности света. Фотохимическую активность ФС 2 характеризовали величиной F_v/F_m целых листьев. Было установлено, что при увеличении дозы КС от 0 до 3,6 кДж $м^{-2}$ (1 Вт $м^{-2}$, 60 мин) активность каталазы линейно снижалась до 80% от контрольного уровня. Однако, характер изменения H_2O_2 не коррелировал с монотонным незначительным снижением каталазной активности: при низкой КС-облучённости, когда активность каталазы близка к контрольной, количество H_2O_2 снижалось на 20-25%, а при более высоких дозах КС кривая H_2O_2 проходила через контрольный уровень и затем превышала его на 30-35%. Процесс, ответственный за такое изменение H_2O_2 был обнаружен при измерении активности ДАБ-пероксидазы: в области низких доз КС активность фермента превышала контрольный уровень на 40-45%, а при максимальной дозе приближалась к контрольному уровню. Эти результаты показывают, что существенно Фх-регулируемым ферментом, контролирующим ОВГ, является пероксидаза, а не каталаза. Дозовая кривая аскорбатпероксидазы по КС обнаружила ту же тенденцию, что и ДАБ-пероксидаза. Предварительное ДКС-облучение приводит к частичному снятию эффекта (на 25-35%), что доказывает участие в регуляции ОВГ системы $ФхВ_к$ * $ФхВ_{дк}$. Таким образом, можно заключить, что регуляция ОВГ фитохромной системой происходит, главным образом через активность аскорбат- и цитоплазматических пероксидаз. Известно, что разнообразные стрессы могут приводить в результате нарушения нормального дыхания и фотосинтеза к увеличению образования АФК, что может негативно отражаться на энергозапасающих и метаболических процессах. Одним из таких факторов является УФ-облучение. В наших экспериментах такое воздействие приводило к значительному снижению фотохимической активности ФС 2 (кр. УФ). Активация фитохромной системы (кр. КС+УФ) частично (15-20%) снимала ингибирующее действие стрессора. Это неполное снятие ингибирования можно, исходя из наших данных, отнести на счёт сдвига ОВГ к более восстановительному состоянию. Под действием УФ-стресса происходит резкое ингибирование - на 60-80% - ассимиляции CO_2. При этом устьичная проводимость снижается только на 20-35%. Предоблучение КС снимает ингибирующий эффект стрессора по CO_2 на 40%, почти не влияя на проводимость. Аналогичные результаты были получены и при тепловом стрессе, который сам по себе через 1,5-2 ч приводил к значительному (30-40%) окислительному стрессу. Предварительное КС-облучение также в значительной степени смягчало последствия термостресса, что может свидетельствовать о неспецифичности функционирования сигнальной Фх-системы в отношение экзо-стрессоров. Анализ представленных данных дает возможность заключить, что, помимо некоторых известных на сегодня процессов, под действием $ФхВ_к$ * $ФхВ_{дк}$ через активность пероксидаз может осуществляться регуляция ОВГ, способствующая более эффективной работе фотосинтетического аппарата.

Работа поддержана грантами РФФИ №12-04-01035, 12-04-92101 и 13-04-91372.

ИЗМЕНЕНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА В СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЕ САХАРНОГО ТРОСТНИКА *SACCHARUM OFFICINARUM* L. НА РАННИХ ЭТАПАХ ПРОЦЕССА ГИБЕЛИ КЛЕТОК, ВЫЗВАННОГО ДЕЙСТВИЕМ ПОВЫШЕННЫХ ТЕМПЕРАТУР

Changes of mitochondrial metabolism in sugar cane suspension culture (*Saccharum officinarum* L.) at the early stage of cell death process caused by high temperature

Любушкина И.В.[1,2], Федяева А.В.[1], Степанов А.В.[1], Побежимова Т.П.[1], Рихванов Е.Г.[1]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия*
[2] *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Иркутский государственный университет», Иркутск, Россия; estel_86@mail.ru*

Программируемая клеточная гибель (ПКГ) у растений является ключевым процессом для реализации программы развития, начиная от эмбриогенеза, дифференцировки клеток и тканей и заканчивая старением организма. Этот процесс также вовлечен в ответные реакции растения на абиотические и биотические стрессовые воздействия, такие как засоление, окислительный стресс, температурные воздействия и многие другие. И, хотя изучению процесса ПКГ у растений в настоящее время посвящено немало работ, до сих пор не существует ясной картины биохимических событий, происходящих во время этого процесса, особенно на ранних этапах. Известно, что в животных клетках важную роль в регуляции и реализации процесса ПКГ играют митохондрии. У растений же роль митохондрий представляется не однозначной – в ряде случаев выявлено их значимое участие в активации ПКГ, но также известно немало примеров, в которых изменений в функционировании митохондрий при реализации программы гибели клетки не отмечено.

В связи с этим, целью настоящей работы стало изучение митохондриального метаболизма в клетках сахарного тростника на ранних этапах процесса гибели клеток под действием повышенных температур. В работе использовалась суспензионная культура клеток *Saccharum officinarum* L. (сорт POJ2878, линия, устойчивая к аноксии, полученная в ИФР РАН), находящаяся в ранней экспоненциальной фазе. Культура выращивалась в темноте при 26°С на среде Мурасиге-Скуга, содержащей сахарозу (3%), тиамин (1,0 мг/л), пиридоксин (0,5 мг/л), никотиновую кислоту (0,5 мг/л), 2,4-Д (2,5 мг/л), инозитол (0,01 %) и дитиокарбамат натрия (0,0005 %).

Было изучено действие ряда повышенных температур (37, 42, 45, 50, 55 и 60°С) на жизнеспособность клеток суспензионной культуры сахарного тростника. Обработку температурами проводили в течение 10 и 30 мин. Выявлено, что длительный процесс гибели клеток наблюдался в культуре сахарного тростника на протяжении 48 ч после воздействия на культуру температуры 50°С (10 мин обработки). В этот период в культуре погибало около 45% клеток. Для выявления роли митохондрий сразу же после воздействия было изучено изменение активности и вкладов цитохромного и альтернативного путей в дыхание клеток сахарного тростника, а также изменение электрохимического потенциала на внутренней митохондриальной мембране. Показано, что воздействие повышенной температуры вызывает снижение активности дыхания: с 1863 нмоль O_2/мин/г сырой массы (у клеток контрольной культуры) до 1566 нмоль O_2/мин/г сырой массы (у клеток культуры, обработанной температурой 50°С). Снижение интенсивности дыхания происходило, главным образом, за счет ингибирования транспорта электронов по основному, цитохромному пути, а вклад альтернативного, цианид-резистентного пути в дыхание, напротив, возрастал с 27 до 61%. Для визуализации электрохимического потенциала на внутренней митохондриальной мембране использовался потенциал-зависимый катионный краситель JC-1 (5,5',6,6'-тетрахлор-1,1',2,2'-тетраэтилбензимидазоло-карбоцианин, 20 мкМ). Оказалось, что, несмотря на снижение интенсивности дыхания у клеток сахарного тростника после обработки повышенной температурой, происходила гиперполяризация внутренней мембраны митохондрий. Можно предположить, что поддержание потенциала на внутренней митохондриальной мембране в клетках сахарного тростника после высокотемпературной обработки осуществлялось за счет гидролиза АТФ.

В клетках гетеротрофной культуры растений, не осуществляющих процесс фотосинтеза, роль митохондрий как источников активных форм кислорода (АФК) значительно возрастает. Изучение изменений митохондриальной активности у клеток сахарного тростника после обработки температурой 50°С позволило предположить, что фактором, вызывающим нарушение функционирования цитохромного пути дыхания, является развитие окислительного стресса. Действительно, выявлено, что действие повышенной температуры приводило к резкому повышению уровня АФК после обработки, которое, вероятно и явилось фактором активации гибели в данных условиях.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ мол_а №14-04-32126 и №15-04-06533 А.

ВЛИЯНИЕ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ УКОРЕНЕНИИ ЗЕЛЕНЫХ ЧЕРЕНКОВ ПОДВОЯ ЯБЛОНИ

The influence of growth regulators on physiological and morphological changes during rooting of soft cuttings of an apple rootstock

Ляхова А.С., Прудников П.С., Голышкин Л.В., Халекова Н.И.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур, Орел, Россия; info@vniispk.ru

Изучалось влияние обработок базальной части зеленых черенков клонового подвоя яблони 54-118 водными растворами биопрепаратов на мезоструктуру листа, содержание хлорофилла в листьях, интенсивность дыхания, чистую продуктивность фотосинтеза (ЧПФ).

Варианты опыта: 1. ИМК (50 мг/л) – контроль; 2. Циркон (1 мл/л); 3. Эпин-Экстра (1,5 мл/л); 4. ИМК (25 мг/л) в сочетании с Эпин-Экстра (1,5 мл/л) и 5. ИМК (25 мг/л) в сочетании с ФлорГуматом (2 мл/л). В четвертом и пятом вариантах проводились дополнительно поверхностные обработки раствором ФлорГумата (1 мл/л) два раза - каждые три недели.

Значение показателя соотношения палисадной паренхимы к губчатойткани определяли в динамике (наблюдения проводили через 3 недели после посадки и в дальнейшем через 3 недели после первой внекорневой обработки ФлорГуматом в вариантах 4 и 5).

Результаты указывают на то, что физиологически активные соединения положительно влияют на формирование высокодифференцированного фотосинтетического аппарата листа, увеличение соотношения палисадной паренхимы к губчатой ткани, способствуют увеличению содержания хлорофилла и интенсивности протекания процесса фотосинтеза, что в конечном итоге сказывается на выходе качественного подвойного материала.

По подвойной форме яблони наблюдалась общая тенденция увеличения соотношения палисадной паренхимы к губчатой (от первого ко второму наблюдению). Увеличение изучаемого показателя происходило по всем вариантам независимо от внекорневых обработок.

Так нами было выявлено, что при первом наблюдении значения соотношения палисадной паренхимы к губчатой ткани приближалось к контролю (0,83; 0,76; 0,75; 0,75 и 0,80, соответственно). При втором наблюдении этот показатель был на уровне контрольного значения по всем вариантам (0,88; 0,85; 0,87; 0,90 и 0,91, соответственно), но в сравнении с первым наблюдалось достоверное увеличение рассматриваемого показателя.

В результате изучения некоторых физиологических показателей было выявлено, что при обработке Цирконом и в вариантах с комплексными обработками содержание хлорофилла было ниже (0,435; 0,420; и 0,442 мг/г сухой массы), чем при обработке в контрольном варианте (ИМК) и Эпин-Экстра (0,493 и 0491 мг/г сухой массы). Наибольшая интенсивность дыхания наблюдалась в вариантах с обработкой Цирконом, Эпин-Экстра и в контроле, и составила 6,10; 5,24 и 5,07 мг CO_2/(г ч). При совместной обработке ИМК и Эпин-Экстра, и ФлорГумат интенсивность дыхания была достоверно ниже, чем при применении чистых препаратов (4,23 и 4,61 мг CO_2/(г ч)).

Высокая чистая продуктивность фотосинтеза (ЧПФ) наблюдалась в варианте ИМК в сочетании с ФлорГуматом – 3,03 г/($м^2$ сут), в контроле ИМК (50 мг/л) - 3,09 г/($м^2$ сут), в остальных вариантах этот показатель был достоверно ниже.

Обработка однокомпонентным раствором Циркона приводила к увеличению интенсивности дыхания, снижению содержания хлорофилла и продуктивности фотосинтеза. Такие особенности физиологических процессов приводят к снижению накопления продуктов ассимиляции. В результате, общий выход подвоев в этом варианте был достоверно меньше – 37,2%, чем в других вариантах опыта.

Наилучшие показатели общего выхода подвоев были получены по вариантам с комплексными растворами ИМК и ФлорГумат - 67,3%, ИМК и Эпин-Экстра - 65,5%, вариант с обработкой чистым раствором Эпин-Экстра был на уровне контроля - 56,3% (в контроле - 55,5%). Выход стандартных подвоев составил 30,7%; 34,2%; 30,3% и 26,5% в контроле и процент выхода подвоев имеющих хороший прирост побегов по этим же вариантам обработок был выше (43,3; 43,7; 42,0 и 33,3% - контроль).

Таким образом, под действием используемых регуляторов роста происходят изменения в мезоструктуре и метаболизме зеленых черенков, что в конечном итоге сказывается на выходе подвоев. Лучшие результаты были получены в варианте с комплексной обработкой ИМК и ФлорГумат и плюс две некорневые обработки ФлорГуматом.

АДАПТИВНЫЙ ОТВЕТ ПРОРОСТКОВ КУКУРУЗЫ НА ВОЗРАСТАЮЩИЙ ВОДНЫЙ ДЕФИЦИТ

Adaptive response of maize seedlings to progressive water deficit

Маевская С.Н., Николаева М.К., Воронин П.Ю.

Федеральное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева Российской Академии наук, Москва, Россия; mknikolaeva@mail.ru

Исследование молекулярных механизмов адаптации и устойчивости растений к абиотическим стрессам, в частности к засухе, остается актуальной задачей физиологии растений. При этом значительное число работ посвящено изучению влияния засухи на C_4-растения, характеризующиеся большей эффективностью использования воды и быстрым накоплением биомассы по сравнению с C_3-растениями. Кукуруза является важной зерновой C_4-культурой, продуктивность которой значительно снижается под влиянием водного дефицита. Целью работы являлось выяснение последовательности развития адаптивных реакций листа на возрастающий водный дефицит на вегетативной стадии роста проростков кукурузы. Для этого определяли содержание растворимых углеводов, пролина, малонового альдегида (МДА), хлорофилла, каротиноидов и интенсивность фотосинтетического CO_2/H_2O - газообмена.

Опыты проводили с проростками кукурузы (*Zea mays* L.), сорт Лучистая, выращенными на смеси песка и дерново-подзолистой почвы (2:1) при интенсивности света 200 мкмоль/($м^2$ с), 16 ч фотопериоде и температуре 25/20°С (день/ночь). Через девять дней после появления всходов опытные растения прекращали поливать. Продолжительность засухи составляла 2, 3, 5 и 8 дней. За 5 дней влажность почвы в опыте снизилась до 27%, за 8 дней - до 21% от влагоемкости почвы (ВП). Контрольные растения поливали ежедневно, поддерживая влажность почвы на уровне 60% от ВП. Пробы для анализа брали из средней части растущего третьего листа.

Показано, что при действии прогрессирующей почвенной засухи накопление растворимых сахаров наблюдалось уже после 2 дней засухи. При этом наиболее интенсивно увеличивалось содержание глюкозы. Максимальное увеличение содержания растворимых сахаров в листьях опытных растений (160%) отмечено после 8 дней засухи. По мере развития водного дефицита постепенно повышалось содержание пролина, которое возросло в 36 раз под влиянием 8- дневной засухи.

Степень перекисного окисления липидов, вызванного накоплением АФК, оценивали по содержанию МДА. После 2, 3 и 5 дней засухи содержание МДА не изменялось. Через 8 дней после начала засухи содержание МДА увеличилось по сравнению с контролем на 60%.

Опыты показали, что при мягком водном дефиците в течение двух и трех дней, а также при более продолжительной засухе (5 и 8 дней) содержание хлорофиллов и каротиноидов не изменялось.

Засуха в течение 2, 3 и 5 дней не оказывала влияния на интенсивность фотосинтетического CO_2/H_2O-газообмена. У растений, находившихся в условиях водного дефицита 8 дней, интенсивность фотосинтеза снизилась на 20% по сравнению с контролем, что, вероятно, было вызвано закрыванием устьиц.

Таким образом, вклад индивидуальных компонентов в систему защиты на разных этапах засухи был различен. На первом этапе засухи (2-3 дня) существенно повышалось содержание растворимых сахаров, преимущественно глюкозы, и в меньшей степени пролина. Увеличение содержания этих соединений обеспечило активное функционирование осмотических и антиоксидантых систем. Повышение содержания пролина при более продолжительной засухе (5 дней) увеличило эффективность работы антиоксидантной и осмопротекторной систем. Содержание МДА в листьях опытных растений оставалось на уровне контроля. В течение первых 5 дней засуха не влияла на фотосинтетическую активность листьев. Эти данные позволяют заключить, что последовательное включение защитных механизмов в начале засухи предотвращало развитие окислительного стресса. Прекращение полива растений в течение 8 дней снизило влагоемкость почвы до 21%. В листьях опытных растений активировалась система перекисного окисления липидов (ПОЛ), что вызвало накопление МДА. Интенсивность фотосинтеза в условиях жесткой засухи уменьшилась на 20%. Изменений в содержании хлорофилла и каротиноидов обнаружено не было. Это показывает, что в условиях водного дефицита синтез фотосинтетических пигментов не нарушался.

ВОЗМОЖНАЯ РОЛЬ ЭНДОЦИТОЗА В Na^+-ГОМЕОСТАТИРОВАНИИ ЦИТОПЛАЗМЫ КЛЕТОК РАСТЕНИЙ

A possible role of endocytosis in plant cell cytoplasm Na^+-homeostasis

Майорова О.В.[1], Орлова Ю.В.[1], Воронков А.С.[1], Халилова Л.А.[1], Мясоедов Н.А.[1], Балнокин Ю.В.[1,2]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; oli-ifr.ran@mail.ru*

[2] *Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия; balnokin@mail.ru*

Ранее в клетках ряда галофитов нами были обнаружены необычные эндоцитозные структуры. В отличие от описанных в литературе «классических» эндоцитозных структур, которые ограничены одной мембраной и являются производными плазмалеммы, обнаруженные нами образования, представляли собой инвагинации сразу двух мембран – плазмалеммы и тонопласта. Такие инвагинации формировали мультивезикулярные тела в вакуолях. Их формирование стимулировалось хлористым натрием в питательном растворе. Было показано также, что эти эндоцитозные образования заполнены ионами Cl^-. Мы предположили, что структуры такого типа осуществляют перенос ионов из апопласта в вакуоль, минуя цитоплазматический компартмент.

В данной работе выяснялась возможность вовлечения эндоцитоза в перенос ионов Na^+ из апопласта в клетки галофита *Suaeda altissima* и гликофита *Arabidopsis thaliana*. С целью выявления эндоцитозных структур исследовали ультраструктуру клеток с помощью электронной микроскопии. Эксперименты проводили на растениях, находящихся в условиях гиперосмотического солевого шока, т.е. при резком увеличении наружной концентрации соли. Наличие ионов Na^+ в эндоцитозных структурах определялось путем обнаружения колокализации точечной флуоресценции зонда на эндоцитоз FM 4-64 и зонда на ионы натрия Sodium Green. Была использована непроникающая форма Sodium Green, которая может оказаться в клетках только в результате эндоцитоза. Сначала на холоду эндоцитозным зондом FM окрашивали плазмалемму, затем при комнатной температуре в присутствии ионов натрия и Sodium Green индуцировали эндоцитоз.

С помощью электронной микроскопии мы выявили наиболее активные в отношении эндоцитоза ткани у обоих растений. У галофита *S. altissima* процесс эндоцитоза был наиболее активен в клетках коры и эпидермы корня, а в листьях – в клетках водоносной паренхимы и хлоренхимной обкладки; в корне *A. thaliana* – в клетках коры. В этих экспериментах наблюдались эндоцитозные структуры, подобные тем, которые были описаны нами ранее. Можно было видеть, что происходит одновременное впячивание плазмаллемы и тонопласта в сторону вакуоли. Между мембранами находился тонкий слой цитоплазмы. Впоследствии образовавшаяся инвагинация отшнуровывалась в вакуоль и там подвергалась лизису.

Эксперименты с использованием флуоресцентного микроскопа выявили колокализацию точечной флуоресценции двух зондов FM 4-64 и Sodium Green в клетках указанных выше тканей растений. Процесс образования эндоцитозных структур, содержащих ионы Na^+, развивался во времени. Первые структуры такого типа можно было наблюдать приблизительно через 1 ч. Степень колокализации двух флуоресцентных зондов оценивали по коэффициенту Пирсона. Он был больше 0,8-0,9 при максимальном его значении единица.

Эти эксперименты указывают на формирование эндоцитозных структур в клетках *S. altissima* и *A. thaliana*, сопровождающееся захватом ионов Na^+ с последующим переносом их в вакуоль, что предполагает участие эндоцитоза в поддержании низких концентраций ионов Na^+ в цитоплазме в условиях засоления.

Работа поддержана грантом РФФИ 15-04-04712а.

ОСОБЕННОСТИ ВЫДЕЛЕНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В РИЗОСФЕРУ КОРНЯМИ ГОРОХА В УСЛОВИЯХ ДЕЙСТВИЯ БЛАГОПРИЯТНЫХ И НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ АБИОТИЧЕСКИХ И БИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ.

Features of the secretion of phenolic compounds in rhizosfera of pea root under the favourable and adverse abiotic and biotic factors

Макарова Л.Е., Ломоватская Л.А., Дударева Л.В., Васильева Г.Г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия; makarova@sifibr.irk.ru

Фенольные соединения (ФС), присутствующие в составе экзометаболитов бобовых растениий, имеют особое значение для его мутуалистического взаимодействия с микроорганизмами, такими как *Rhizobium* и арбускулярно- микоризальными грибами типа *Glomeromycota*. Наиболее всего изучена роль ФС в формировании бобово-ризобиального симбиоза. Она заключается в активизации ризобий и контролировании их концентрации в ризосфере растения-хозяина. Надо полагать, что все изменения в составе и количестве ФС, выделяемых растением во внешнюю среду, могут влиять на формирование бобово-ризобиального симбиоза. Эти изменения могут вызывать многие факторы (температура, свет и др.). Влияют на состав секретируемых корнями ФС и микросимбионты (ризобии, арбускулярные грибы). Роль ФС в контролировании инфицирования бобового растения фитопатогеном, специализированном к бобовым растениям, в настоящее время не изучена.

Среди выделяемых в ризосферу ФС присутствуют как активизирующие микроорганизмы, так и подавляющие их. Вероятно, баланс между ними является определяющим для успешности симбиоза и для регуляции симбиотических взаимодействий при изменяющихся условиях среды. В своих исследованиях мы прослеживали за изменением содержания в экссудатах гороха веществ негативного действия на микроорганизмы. В экссудатах гороха наряду с фитоалексином пизатином обнаружены N-фенил-2-нафтиламин и эфиры орто-фталевой кислоты (дибутил- и диоктил – ортофталаты), относенные к негативным аллелопатическим веществам. Показано, что на их секрецию влияют условия освещения, температура: отсутствие света приводит к усилению их секреции корневыми клетками, пониженная температура – к уменьшению общего количества секретируемых в ризосферу ФС. При этом относительное содержание веществ негативного действия оказывается в экссудатах существенно выше.

Нами показано, что на секрецию корнями гороха ФС и веществ негативного действия (пизатин, дибутид-ортофталат, N-фенил-2-нафтиламин) бактерии *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*, вступающие в мутуалистические взаимодействия с растениями гороха, и *Pseudomonas siringae* pv. *pisi*, специфический патоген этого растения, оказывают практически одинаковое влияние. Обнаружено, что через 24 ч после инокуляции корней проростков гороха этими бактериями количество экссудируемых ФС и входящих в их состав изучаемых веществ негативного действия зависело от размеров и массы корней. Примечательно, что под влиянием обоих видов бактерий возрастало содержание в экссудатах нарингенина, показавшего себя индуктором *nod*-генов *Rh.leguminosarum*. Вызывает интерес 2 выявленных нами факта. Первый - это наиболее заметное повышения содержания нарингенина под влиянием фитопатогена, для которого значение этого вещества в настоящее время не изучено. Второй факт связан с полученными нами доказательствами более выраженного подавления роста фитопатогена N-фенил-2-нафтиламином, по сравнению с его влиянием на ризобии. Практически одинаковое увеличение экссудации пизатина, обнаруженное нами под влиянием указанных выше бактерий, вероятно, может иметь различное влияние на каждый из них. Факты в литературе указывают на отсутствие отрицательного влияния фитоалексина гороха – пизатина – на ризобии, вступающие с ним в мутуалистические взаимоотношения. Роль этого вещества для специфического для гороха фитопатогена *Pseudomonas siringae* pv. *pisi* пока не изучена.

Приведенные выше данные свидетельствуют о том, что вид действующего фактора может определять особенности экссудации ФС корнями бобового растения. Эти особенности могут выражаться в количестве секретируемых растением в ризосферу ФС и качественных изменениях в их составе. Вероятно, характер возникающих под влиянием каждого из факторов изменений в количестве представленных в корневых экссудатах фенольных компонентов, способных активировать микроорганизмы или подавлять их, определяют возможности бобового растения для симбиотических взаимодействий с этими микроорганизмами в его ризосфере в меняющихся условиях среды.

ВЛИЯНИЕ КОФЕЙНОЙ КИСЛОТЫ НА РОСТОВЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ *SOLANUM TUBEROSUM* В УСЛОВИЯХ ДЕСТРУКЦИИ МИКРОТРУБОЧЕК

The influence of caffeic acid on the growth parameters of *Solanum tuberosum* in conditions of the destruction of microtubules

Макеева И.Ю., Пузина Т.И., Власова Н.С.

Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего профессионального образования «Орловский государственный университет», Орел, Россия; makmus57@yandex.ru

Физиологическая роль гидроксикоричных кислот, в том числе и кофейной кислоты, по сравнению с другими представителями фенольных соединений, остается мало исследованной. Не найдено сведений об участии кофейной кислоты в регуляции ростовых реакций растений при действии стрессоров. Известно, что компоненты цитоскелета реагируют на внешние воздействия и принимают участие в адаптации растений к условиям среды. Ранее нами показано, что деструкция тубулинового цитоскелета с помощью химических агентов вызывает активизацию реакции перекисного окисления липидов и изменения в активности антиоксидантной системы. Это указывает на развитие окислительного стресса при структурной модификации цитоскелета. Целью данной работы было исследование участия кофейной кислоты в регуляции ростовой активности органов *Solanum tuberosum* в зависимости от целостности микротрубочек. Изучали растения картофеля сорта Удача, выращенные в почвенной культуре в условиях вегетационного домика. В качестве деструктора тубулинового цитоскелета использовали 1 мМ раствор алкалоида колхицина («Fluka», Швейцария). Обработку растений 0.1 мМ раствором кофейной кислоты («Sigma», США) и колхицином проводили через 15 сут после появления всходов. Показано, что кофейная кислота не оказала влияния на ростовые реакции наземных побегов картофеля (рост в высоту и число узлов) как в условиях целостного, так и деструктурированного тубулинового цитоскелета. Это происходило на фоне неизменного количества гиббереллинов, которые, как известно, регулируют рост побегов за счет активизации работы остаточных и интеркаллярных меристем. В отличие от наземных побегов, кофейная кислота и колхицин оказали действие на процесс клубнеобразования. Нарушение целостности тубулинового цитоскелета ингибировало процесс инициации клубнеобразования. В этих условиях кофейная кислота не только снимала действие колхицина, но и способствовала дополнительной закладке клубней. В результате количество клубней в кусте превысило уровень контрольного варианта. Деструкция микротрубочек отрицательно сказалась на массе клубней, тогда как кофейная кислота способствовала повышению продуктивности, причем, при совместном действии с колхицином, полностью снимала его отрицательный эффект. Такое действие кофейной кислоты, по-видимому, обусловлено положительным влиянием на уровень ауксинов, которые, как нами ранее установлено, усиливают рост клубней и приток к ним ассимилятов. При определении размеров клеток перимедуллярной зоны клубня, где откладывается основное количество крахмала, в варианте с колхицином установлено увеличение как их длины, так и ширины (на 16 и 20%, соответственно). Добавление кофейной кислоты нивелировало эффект колхицина, в их действии наблюдался антагонизм. Таким образом, вне зависимости от структурного состояния тубулинового цитоскелета кофейная кислота не оказала влияния на ростовые показатели наземных побегов картофеля, в то время как инициация клубнеобразования и рост клубней стимулировались под действием кофейной кислоты. В условиях нарушенной структуры микротрубочек кофейная кислота полностью снимала ингибирующий эффект колхицина на ростовые реакции клубней.

Работа частично поддержана госзаданием Министерства образования и науки РФ, проект № 1373.

РЕГУЛЯЦИЯ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ ПРОТИВ ПАТОГЕНОВ И ВРЕДИТЕЛЕЙ ЭНДОФИТНЫМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ

Regulation of plant defense with endophytic bacterium

Максимов И.В., Хайруллин Р.М., Вахитов В.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа, Россия; maksimov@ufaras.ru

В настоящее время особое внимание биотехнологов приковано к созданию биопрепаратов, основу которых составляют ризосферные стимулирующие рост растений микроорганизмы (СРРМ) и большинство из них создано на основе свободноживущих почвенных штаммов. Однако исследователи упускают из виду наличие штаммов, способных мутуалистически существовать внутри растительных тканей, без нанесения существенного вреда растению-хозяину, и одновременно, проявлять комплекс хозяйственно полезных свойств.

Механизмы действия СРРМ на рост и устойчивость с.-х. культур связывают с рядом «полезных» их свойств:

1. Такие бактерии могут синтезировать природные стимуляторы роста растений - ауксины, цитокинины, гиббереллины, а, например, эндофиты из подсолнечника – жасмоновую (ЖАК) и салициловую (СК) кислоты – известные как «защитные» фитогормоны;

2. Бактериальные эндофиты способны растворять соединения фосфора и других элементов питания растения такими метаболитами как органические кислоты;

3. Значительная часть эндофитов являются продуцентами антибиотиков, биосурфактантов и сидерофоров. Например, бактерии рода Bacillus продуцируют липопептиды трех семейств: сурфактины, фенгицины и итурины, снижающие коэффициент поверхностного натяжения водных растворов солей, повышая доступность их корням растений;

4. Эндофиты продуцируют соединения с элиситорной активностью, такие как сурфактин и фенгицин, индуцирующие системную индуцированную устойчивость.

5. Эндофитные СРРМ способны синтезировать внеклеточные гидролазы, например, хитиназы и β-1,3-глюканазы, разрушающие структурные полисахариды клеточной стенки грибов и, соответственно, лизирующие гифы. Одновременно, при деградации хитина образуются олигосахариды, являющиеся эффективными элиситорами системной устойчивости растений;

6. СРРМ могут продуцировать H_2O_2 в высоких концентрациях и подавлять патогенную микрофлору, успешно конкурируя, таким образом, за питательные ресурсы. Такая активность эндофитов может быть обусловлена, в том числе, синтезом ими ряда оксидаз органических кислот, например оксалатоксидазы;

7. СРРМ способны запускать системную (приобретенную) устойчивость растений, сопровождающуюся координированной активацией патоген-индуцируемых (Pathogenesis-Related, PR) генов, многие из которых кодируют белки с антимикробной активностью.

Эти свойства эндофитов свидетельствуют о перспективности работ по созданию биопрепаратов на их основе для защиты растений от биотических и абиотических стрессовых факторов окружающей среды. Но часто бывает так, что штаммы СРРМ проявляют лишь только часть перечисленных свойств, что предполагает перспективность составления «целевых» консорциумов бактерий, проявляющих полифункциональную активность на конкретных культурах и в конкретных природно-климатических условиях. Кроме того перспективным может стать использование генно-инженерного подхода, способствующего расширению спектра эффективности микробного препарата за счет внедрения в геном штамма «дополнительных» генов, например, кодирующих инсектицидные белки. Например, с такой целью трансформированы штаммы *E. coli, B. subtilis, B. megaterium, P. fluorescens*, синтезирующие Bt-токсины. Другим направлением может быть создание эндофитных штаммов, трансформированных генами, кодирующими синтез ферментов, участвующих в деструкции органических загрязнителей или, например, токсинов патогенных грибов.

К сожалению, ассортимент российских препаратов на основе СРРМ пока не так разнообразен в сравнении с мировым. На наш взгляд, эндофитные СРРМ могут рассматриваться как эффективная альтернатива химическим средствам защиты растений на следующем этапе «зеленой революции».

Работа выполнена при поддержке гранта Министерства образования и науки РФ № 14.604.21.0016 по приоритетному направлению «Науки о жизни» в рамках мероприятия 1.2 Программы (уникальный идентификатор (RFMEFI60414X0016)).

РЕДОКС-РЕГУЛЯЦИЯ ТРАНСМЕМБРАННОГО ИОННОГО ТРАНСПОРТА В МУЖСКОМ ГАМЕТОФИТЕ

Redox-regulation of transmembrane ion transport in male gametophyte

Максимов Н.М., Брейгина М.А., Ермаков И.П.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия; nmmaksimow@gmail.com

Регуляция прорастания пыльцевого зерна и роста пыльцевой трубки является актуальной темой в современной репродуктивной биологии растений. Быстрая активация и прорастание пыльцевого зерна на рыльце пестика, полярный и направленный рост пыльцевой трубки обеспечивают доставку неподвижных мужских гамет в зародышевый мешок, где происходит двойное оплодотворение. Кроме того, благодаря простоте культивации пыльцевых трубок в условиях *in vitro* и *semi in vivo*, они являются прекрасным модельным объектом для изучения закономерностей полярного клеточного роста.

Хорошо известно, что полярные ионные токи (Ca^{2+}, Cl^-/NO_3^-, H^+, K^+) являются ключевым механизмом, обеспечивающим активацию пыльцевого зерна, установление и поддержание полярности, тургорного давления и, в конечном счете, роста пыльцевой трубки. Следствием полярных токов являются ионные градиенты (Ca^{2+}, H^+, Cl^-/NO_3^-) в цитоплазме вегетативной клетки и латеральный градиент мембранного потенциала на плазмалемме. Существующие молекулярно-биологические данные демонстрируют, что полярность токов достигается как неравномерным распределением ион-транспортных систем в плазмалемме, так и их дифференциальной пространственной регуляцией.

В последние годы формируются представления о редокс-регуляции различных физиологических процессов, в том числе и ионного транспорта. Одними из ключевых редокс-сигнальных агентов являются активные формы кислорода (АФК). В настоящее время накоплены значительные данные об АФК-регуляции ростовых процессов в прогамной фазе оплодотворения. Предполагается, что основной АФК, содержащейся в тканях рыльца, и наиболее вероятным экзогенным регулятором прорастания пыльцы *in vivo* является пероксид водорода. Действительно, низкие концентрации H_2O_2 (100 мкМ) оказывают стимулирующее действие на прорастание пыльцевых зерен *in vitro*. Большое значение имеют, по-видимому, и эндогенные АФК: подавление экспрессии НАДФН-оксидазы в пыльцевых трубках приводит к ингибированию роста; при этом обработка H_2O_2 (500 мкМ) восстанавливает рост до контрольного уровня. Кроме того, пыльцевые трубки с нарушением функции НАДФН-оксидазы характеризуются ярко выраженными осцилляциями роста и лопаются после непродолжительной культивации *in vitro*. На более поздних этапах продемонстрирована роль АФК как межклеточного сигнала: локальный максимум АФК вблизи синергид в зародышевом мешке стимулирует разрыв пыльцевой трубки и высвобождение спермиев. Таким образом, участие H_2O_2 в регуляции прогамной фазы оплодотворения является установленным фактом, однако механизмы действия пероксида водорода и мишени для него остаются не изученными.

Целью настоящей работы была идентификация мембранных мишеней для H_2O_2: в качестве первого шага требовалось обнаружить ионные токи, чувствительные к H_2O_2, и изучить его эффект на интегральный показатель ионного транспорта – мембранный потенциал. Для этого проводили измерение Ca^{2+} и K^+ токов в протопластах, выделенных из пыльцевых зерен, прямым методом с использованием техники «пэтч-кламп». В качестве возможного механизма регуляции Ca^{2+}-каналов было рассмотрено образование смешанного дисульфида между белком ионного канала и глутатионом, основным компонентном редокс-буферной системы клетки. Также на протопластах из пыльцевых трубок, с использованием флуоресцентной микроскопии, была изучена динамика $[Ca^{2+}]_{cyt}$ и мембранного потенциала при действии H_2O_2.

Мы показали, что H_2O_2 в низких, не токсичных концентрациях (100 мкМ) приводит к активации входного Ca^{2+} тока. Также было обнаружено увеличение $[Ca^{2+}]_{cyt}$ при действие H_2O_2; эффект пероксида успешно воспроизводился при добавлении окисленного глутатиона (1 мМ). При действии H_2O_2 происходила невысокая, но достоверная активация выходного K^+ тока. Влияния H_2O_2 на мембранный потенциал протопластов из пыльцевых зерен зарегистрировано не было, однако мембранный потенциал в пыльцевых трубках и протопласты из них изменялся под действием H_2O_2.

Таким образом, было продемонстрировано действие одного из ключевых редокс-регуляторов пероксида водорода на ионный транспорт Ca^{2+} и K^+. Воспроизведение эффекта H_2O_2 на $[Ca^{2+}]_{cyt}$ при добавлении окисленного глутатиона может указывать на возможный механизм активации Ca^{2+} каналов: H_2O_2-зависимое глутатионилирование канала.

ЭКОЛОГО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПРОЦЕССА ФОТОСИНТЕЗА РАСТЕНИЙ ЛЕСНЫХ И ТУНДРОВЫХ ЭКОСИСТЕМ КРИОЛИТОЗОНЫ В УСЛОВИЯХ ИЗМЕНЕНИЯ КЛИМАТА

Ecophysiological and biochemical features of photosynthesis in permafrost forest and tundra plants under climate changing conditions

Максимов Т.Х.[1,2], Максимов А.П.[1], Кононов А.В.[1,2], Терентьева М.П.[1,2], Петров Р.Е.[1,2]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологических проблем криолитозоны, Сибирское отделение Российской академии наук, Якутск, Россия; t.c.maximov@ibpc.ysn.ru*

[2] *Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Северо-Восточный федеральный университет имени М. К. Аммосова», Институт естественных наук, Якутск, Россия; E-mail: tcmax@mail.ru*

Территория Северо-Востока России, занимающей значительную часть пространства Севера, играет важную роль в климатической системе планеты и является свободным резервом биосферы в пределах Единого циркумполярного экологического пространства. Установлено, что рост температуры воздуха в этом регионе было наибольшим (2-3,5°С за 100 лет), и ответное воздействие криосферы на атмосферу было более значительным, чем где-либо. Здесь представлены все основные биотические и абиотические компоненты Севера, дающие отклик на изменения климата: Северный Ледовитый океан, многолетняя мерзлота, северная граница лесов, северные популяции растений. Основной лесообразующей породой на Северо-Востоке России является лиственница (*Larix* sp.), на долю которой приходится 109,3 млн. га или 79% покрытых лесом земель республики. Площадь типичной субарктической тундры – 37 млн. га.

Исследования углекислотного газообмена растений проводились на трех научных станциях Института биологических проблем криолитозоны СО РАН в России. В двух разнопродуктивных лиственничных массивах: в южной Якутии – станция «Эльгээйи», 60°00'с.ш., 133°49' в.д. (в 60 км южнее п. Усть-Мая), в центральной Якутии станция «Спасская падь», 62º15'с.ш., 129º37'в.д. (в 40-км севернее г. Якутска), и наконец, в типичной субарктической тундре, на станции «Чокурдах», 70°49'с.ш., 147°29'в.д. (в 28 км севернее п. Чокурдах). Сравнительные исследования фотосинтеза и дыхания растений также проводили в Северной Канаде на научной станции Кууджарапик Университета Лаваль (55°17' с.ш., 77°45' в.д.) в рамках международного гранта INTERACT «Changing Permafrost In The High Latitude And Its Global Effects». При анализе климата и фотосинтетической продуктивности лиственничных лесов нами использованы первичные материалы 1954, 1977, 1988, 2002 и 2012 гг., полученные на научной станции «Спасская Падь». Измерения углекислотного газообмена растений (фотосинтез и темновое дыхание) производились инфракрасными газоанализаторами ADC-Shimadzu, UK и Li-Cor LI-6400 (USA). Кривые насыщения фотосинтеза углекислотой (A/Ci- или CO2-кривые) получали при насыщающей ФАР=1300-1500 мкмоль фотонов $м^{-2}$ $с^{-1}$ и температуре блока камеры 20-25°С. Полученные A/Ci-кривые далее анализировались при помощи специализированного программного обеспечения (ПО) Photosyn Assistant 1.1 (Dundee Scientific, Англия), использующим механистическую фотосинтетическую модель, разработанную Farquhar et al. (1980), модифицированную позднее Sharkey (1985) и Harley et al. (1992).

Впервые на Северо-Востоке России сделана попытка физиологического обоснования фотосинтетической продуктивности растений, получены количественные показатели продукционного процесса. Получен ряд конкретных результатов: 1) сделан вывод о высокой депонирующей роли корневой системы растений высоких широт; 2) выявлены микрометеорологические оценки углеродного баланса; 3) обращено внимание на короткий вегетационный период развития растений. Эта особенность способствует обогащению атмосферы северных широт углекислотой; 4) проанализированы глобальные базы данных по темновому дыханию растений различных функциональных групп.

Показано, что адаптация популяций к конкретному сочетанию гидротермических факторов климата происходит в результате перестройки донорно-акцепторных отношений отдельных органов растений, сопровождающейся изменением общего числа и объема клеток и хлоропластов, фиксации углекислого газа и темнового дыхания, транспорта ассимилятов и т.д. в определенные периоды роста и развития.

Рост и развитие растений Северо-Востока России в течение вегетационного периода обеспечивается высокими уровнями фотосинтеза и транспирации при сравнительно низких затратах на дыхание и поддержание. Большая межгодовая вариабельность фотосинтеза и темнового дыхания свидетельствует о высокой адаптивности растений к особым условия криолитозоны.

Продукционный процесс растений криолитозоны в условиях глобального потепления климата будет лимитирован как эндогенными (устьичная проводимость), так и экзогенными (обеспеченность влагой, минеральными органогенами, особенно азотом) факторами.

ВОДНЫЕ МАКРОФИТЫ (*EGERIA DENSA* PLANCH. И *CERATOPHYLLUM DEMERSUM* L.) РАЗЛИЧАЮТСЯ АНТИОКСИДАНТНЫМИ РЕАКЦИЯМИ НА СОВМЕСТНОЕ ДЕЙСТВИЕ МОЧЕВИНЫ И ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

Aquatic macrophytes (*Egeria densa* Planch. and *Ceratophyllum demersum* L.) differ in antioxidant reactions to the combined effect of urea and heavy metals

Малева М.Г., Борисова Г.Г., Чукина Н.В.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», Екатеринбург, Россия; maria.maleva@mail.ru

В последние годы в литературе появилось много работ, посвященных влиянию отдельных загрязнителей на развитие про- и антиоксидантных реакций в листьях водных макрофитов, однако совместное действие органических и неорганических поллютантов изучено недостаточно. Среди загрязняющих веществ, попадающих в избыточном количестве в водные экосистемы, особое место занимают мочевина и тяжелые металлы. Мочевина может накапливаться в водоемах и водотоках в результате естественных биохимических процессов как продукт обмена веществ водных организмов, но чаще всего это происходит в результате сброса животноводческих и бытовых сточных вод. Имеются данные, что мочевина может выступать в роли низкомолекулярного антиоксиданта, защищающего клеточные мембраны от окислительного повреждения (Кения и др., 1993). Многие металлы в небольших количествах также необходимы для нормальной жизнедеятельности высших растений. Такие элементы, как медь и никель, входят в состав многих ферментативных систем клетки. В то же время повышенные концентрации мочевины и тяжелых металлов могут вызывать окислительное повреждение мембран, истощение пула низкомолекулярных антиоксидантов, угнетение фотосинтетической функции у водных макрофитов (Malec et al., 2009; Maleva et al., 2009; Maleva et al., 2013; Чукина и др., 2013).

Было изучено совместное действие мочевины и тяжелых металлов (Ni^{2+} и Cu^{2+}) на функционирование антиоксидантной системы *Egeria (Elodea) densa* Planch. и *Ceratophyllum demersum* L. Побеги растений (10–15 см) инкубировали 2 суток на питательной среде (УНИФЛОР аква-7, Россия, ООО «Зоомир») при естественном освещении и комнатной температуре (pH 6,0–7,5). В опытные варианты добавляли мочевину (2 мМ); Ni^{2+} (10 мкМ); мочевину+Ni^{2+} (2 мМ+10 мкМ); Cu^{2+} (10 мкМ); мочевину+Cu^{2+} (2 мМ+10 мкМ). Все ионы металлов вносили в форме сульфатов. После инкубации побеги промывали 0,01% раствором Na-ЭДТА и дистиллированной водой. Контролем служили побеги, инкубированные на среде без добавления поллютантов. Было определено содержание фотосинтетических пигментов, количество продуктов перекисного окисления липидов, содержание растворимого белка и небелковых низкомолекулярных антиоксидантов (аскорбата, пролина), активность ферментов (уреазы, каталазы, аскорбат- и гваякол-пероксидазы).

Обнаружено, что у обоих видов водных растений мочевина активировала многие метаболические процессы, включая синтез фотосинтетических пигментов, низкомолекулярных антиоксидантов и некоторых ферментов. Вероятно, мочевина у исследуемых растений служит дополнительным источником азота, необходимого для синтеза многих важных метаболитов.

Никель был более токсичен для *C. demersum*, чем для *E. densa*. В то же время медь при той же концентрации вызывала критический дисбаланс в листьях изученных макрофитов. Выявлены межвидовые различия в проявлении активности пероксидаз при действии исследуемых поллютантов: у *E. densa* наиболее активной была аскорбатпероксидаза, в то время как у *C. demersum* – гваякол-пероксидаза. По-видимому, это связано с обеспеченностью необходимым субстратом. Добавление мочевины к Ni^{2+} не оказывало значимого эффекта на антиоксидантные реакции у изучаемых видов, в то время как совместное действие мочевины и Cu^{2+} усиливало токсичность этого иона. Протекторное действие мочевины при добавлении к меди наблюдали лишь в отношении растворимого белка.

Как известно, основным путем усвоения мочевины у большинства растений является гидролиз под действием уреазы и последующая ассимиляция в обычных реакциях азотного и углеродного обмена. Мы ожидали, что добавление никеля будет стимулировать активность уреазы, поскольку данный элемент входит в ее состав. Однако действие никеля не влияло (у эгерии) или даже подавляло (у роголистника) активность этого фермента. В то же время добавление мочевины (которая является единственным физиологическим субстратом для уреазы) к никелю повышало активность фермента в 2 раза у *E. densa*, и более чем в 3 раза – у *C. demersum*.

Таким образом, наши исследования показали, что при действии мочевины и тяжелых металлов на растения, принадлежащие к одной экологической группе – погруженных водных макрофитов (гидатофитов), проявляются как общие ответные реакции, так и межвидовые различия.

Работа выполнена при поддержке Программы повышения конкурентоспособности Уральского федерального университета им. первого Президента России Б.Н. Ельцина.

ВЛИЯНИЕ НАГРУЗКИ ПЛОДАМИ НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ДОНОРНО-АКЦЕПТОРНОЙ СИСТЕМЫ РАСТЕНИЙ ПЕРСИКА

The fruits charge influence on functional condition of peach plants source-sink relationships

Малина Р.Б., Шишкану Г.В., Раля Ф.Х.

Институт генетики, физиологии и защиты растений АН РМ, Кишинев, Молдова; malinaraya@mail.ru

Система донорно-акцепторных отношений (ДАО) многолетнего растения состоит из циклов разного порядка. Центральное место среди них занимает цикл развития плодов, который в свою очередь фрактально делится на более мелкие периоды. На каждом из этих этапов происходит переключение в системе ДАО, которое служит сигналом для активирования синтеза новых ферментных белков и одновременно ингибирования предыдущих процессов. Переключение метаболических реакций организма меняет физиологическое состояние растения и активность фотосинтетического аппарата (ФА), которую исследовали с помощью флуориметра, замеряя интенсивность замедленной флуоресценции хлорофилла (ЗФ). Влияние различных факторов вызывает изменение интенсивности флуоресценции пигментного комплекса листьев, что позволяет оценить эффективность работы фотосинтетического аппарата и устойчивость его работы. Нами было изучено влияние нагрузки плодами на состояние ФА у многолетних плодоносящих растений персика, произрастающих на территории Молдовы. Разные сорта плодовых культур были выращены в лизиметрах Института генетики, физиологии и защиты растений АН РМ и наблюдались в течение ряда лет. Измерения проводили с помощью прибора Portable Chlorophyll Fluorometer PAM-2100 в течение всего периода вегетации от распускания листьев до их опадения. Фиксировали следующие показатели: интенсивность фотосинтетически активной радиации (ФАР), Yeld - относительный квантовый выход, определяющий эффективность работы фотосистемы (ФС II), ETR - как относительную скорость движения электронов по электроннотранспортной цепи, показатели фотохимического и нефотохимического тушения флуоресценции и др.

Современные биофизические методы диагностики состояния ФА позволяют оценивать не только конечный результат продуктивности растения, но и получать данные о прохождении процессов в растительном организме в течение вегетации. Динамическая картина активности ФА, полученная с помощью флуориметра, носит сходный характер для всех изученных сортов персика. Он представлен двухвершинной кривой, которая отражает два этапа формирования плода - дифференциацию эндосперма и созревание мезокарпа. У позднеспелых сортов Фламинго и Молдавский желтый отмечено смещение графика по временной оси на более поздний срок и увеличение его амплитуды, потому что длительность созревания плодов на 25-30 дней больше и плоды набирают массу до 250 г, что почти вдвое больше, чем у ранних сортов Коллинс, Киевский ранний.

Изучение процесса функциональной активности ФС II выявило определенную зависимость его интенсивности от количества плодов. В наших модельных опытах при площади питания 1м^2 количество плодов на одно растение варьировало от 10 до 110 штук в зависимости от сорта. Формирование цветочных почек в августе – сентябре закладывает предпосылки будущего урожая, поэтому наиболее продуктивные растения выделяются уже на ранних стадиях вегетации. Активность дыхания побегов, сухая масса почек, ферментативная деятельность в них на 20-30% выше, чем у малопродуктивных растений. Относительный квантовый выход (Y) у растений с большим количеством плодов отличается большей интенсивностью как в течение дня, так и на протяжении всего периода роста и созревания плодов. Предполагается, что на графике эффективности работы ФА в виде двухвершинной кривой, величина первого пика определена программой заложенных цветочных почек, а параметры второго пика соответствуют реальному уровню урожая. Коррекция работы ФА с учетом фактического количества плодов происходит после завершения активного роста побегов, перед наливом фруктов. Отмечено почти полное исчезновение второго пика активности ФС II после массовой гибели цветков в результате весенних заморозков. Искусственное удаление одной из скелетных ветвей не привело к снижению эффективности ФА и параметры его активности сохранялись на уровне заложенной ранее высокой продуктивности. В период налива плодов квантовый выход относительной флуоресценции хлорофилла у листьев рядом с плодом почти вдвое ниже, чем на бесплодных ветвях, что связано с усиленным оттоком ассимилятов из прилежащего листа. Различия в активности ФА у разных по продуктивности растений максимальны в период налива и созревания плодов. После сбора урожая эти различия нивелируются и на поддержание жизнедеятельности вегетативной массы используется экономный режим ФА.

Установлено, что главным регулирующим центром системы взаимозависимых связей фруктового дерева являются плоды. Их количество влияет на сигнальную систему растения и состояние донорно-акцепторных связей. Динамический процесс протекает с учетом внешних изменений, погодных условий и состояния акцепторов. Изменение оптических свойств хлорофиллов, как реакция на внешнее воздействие, делает возможной экспресс диагностику функционального состояния пигментной системы растения с помощью флуориметра.

РОЛЬ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ЭТИЛЕНА И NO В КОНТРОЛЕ ПРОЛИФЕРАЦИИ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТОК ARABIDOPSIS

Ehylene and NO interact upon proliferation of *in vitro* cultivated *Arabidopsis* cells

Мамаева А.С., Фоменков А.А., Носов А.В., Миронов К.С., Ракитин В.Ю., Новикова Г.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; AnnetteSt@yandex.ru

Оксид азота (NO) – внутриклеточный регулятор физиологических процессов у представителей различных филогенетических групп. У животных NO регулирует деление клеток, тогда как для культивируемых клеток растений, существование которых основано на поддержании активной пролиферации, этот вопрос остается практически неизученным. Влияние NO на пролиферацию клеток животных зависит от его концентрации: низкие концентрации NO (пМ-нМ) стимулируют пролиферацию, а высокие (мкМ-мМ) – ингибируют рост и даже могут приводить к гибели клеток. Признанными регуляторами пролиферации клеток растений являются фитогормоны, из которых наименее исследованная и наиболее неоднозначная роль принадлежит этилену. В связи с этим мы изучали влияние NO на пролиферацию культивируемых *in vitro* клеток *Arabidopsis thaliana* (экотип Columbia, Col-0), отличающихся функционированием пути передачи этиленового сигнала. В культуре клеток Col-0 дикого типа уровень NO увеличивался по мере роста числа клеток, тогда как в клетках этилен-нечувствительного мутанта *ein2* NO наиболее активно образовывался сразу же после выхода клеток из лаг-фазы, что сопровождалось также накоплением пероксинитрита. После 3-часовой обработки клеток нитропруссидом натрия (SNP) - донором NO, содержание NO увеличивалось в клетках обоих генотипов, что мы доказали при помощи флуоресцентного красителя DAF-FM DA, предел чувствительности которого лежит в области наномолярных концентраций NO. Подчеркнем, что для работы мы подобрали такие концентрации SNP, которые не оказывали влияния на жизнеспособность клеток.

Клетки Col-0 и *ein2* синтезируют этилен, продукция которого, совпадающая с логарифмической фазой роста, ярко выражена у Col-0. Обработка донором NO снижала продукцию этилена клетками Col-0, в культуре клеток *ein2* накопление этилена не изменялось. Поскольку в культуре *ein2* продукция этилена крайне мала и не зависит от обработки SNP, можно заключить, что в культивируемых клетках Col-0 и *ein2* этилен и NO ингибируют синтез друг друга. В клетках обоих генотипов, обработанных SNP, снижался уровень АФК.

При обработке низкими концентрациями SNP (5-20 мкМ) в культуре Col-0 наблюдалась тенденция к увеличению доли S-фазных клеток, тогда как более высокие концентрации (100-1000 мкМ) приводили к снижению их количества. Число S-фазных клеток в культуре *ein2* не изменялось ни при одной из проверенных концентраций SNP. Снижение числа S-фазных клеток в культуре Col-0 сопровождалось понижением уровня экспрессии *CYCD3;1*, который является маркером G1-S перехода, тогда как экспрессия митотического циклина *CYCB1;1* и *CYCA2;3*, соответствующего G2-M переходу, не изменялись. То есть, NO влияет на прохождение клеточного цикла на уровне G1-S перехода.

Одним из основных механизмов, обеспечивающих восприятие и передачу сигналов, является фосфорилирование белков, в связи с чем мы исследовали изменение спектра фосфорилированных белков под действием SNP. Среди белков, фосфорилирование которых менялось NO-зависимо, мы выявили 14-3-3 белок омега. Изменение фосфорилирования этого белка представляет интерес, поскольку показано влияние 14-3-3 белков на синтез этилена, прохождение клеточного цикла и работу MAP-Киназных каскадов.

Так как экспрессия генов циклинов изменялась в клетках, чувствительность которых к этилену определяет их пролиферативную активность, мы предположили, что NO не только может влиять на синтез этилена, но и «вмешиваться» в работу пути передачи этиленового сигнала, модифицируя его белковые компоненты. Нитрирование Тир в белках – одно из молекулярных последствий обработки клеток NO. При передаче этиленового сигнала функционируют митоген-активируемые протеинкиназы (MPK), которые у животных подвергаются нитрированию. На рекомбинантных AtMPK3/4/6 мы показали, что при нитрировании их энзиматическая активность снижалась. Поскольку AtMPK3 регулирует передачу этиленового сигнала, AtMPK6 – синтез этилена, а AtMPK4 – цитокинез, нитрирование этих белков может иметь сигнальную функцию. Таким образом, мы установили, что для регуляции клеточного цикла NO необходимо нормальное функционирование пути передачи этиленового сигнала. Интервенция NO в сигнальный путь этилена может осуществляться посредством либо снижения содержания в клетках АФК, либо влияния на активность MPK, участвующих в передаче этиленового сигнала.

Работа выполнена при частичной поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 14-04-00333).

ВЛИЯНИЕ ЗАСОЛЕНИЯ СРЕДЫ НА РОСТ И НАКОПЛЕНИЕ ИОНОВ У ЧЕРЕНКОВ СОРТОВ ВИНОГРАДА

The influence of environment salinization on the growth and ion accumulation in cuttings of grape varieties

Мамедова К.К.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Дагестанский государственный университет, Махачкала, Республика Дагестан, Россия
kalimat.mamedova@mail.ru

Виноград считается солеустойчивой культурой. Однако в условиях поливного земледелия на заливаемых участках проявляются симптомы его страдания и снижения урожайности. С учетом также все нарастающего засоления почв возникает необходимость изучения устойчивости сортов винограда к засолению среды, что сложно достичь в полевых условиях. В связи с этим возникает задача поиска путей моделирования, культивированием его стеблевых черенков у сортов на засолении.

Для этого брались стеблевые черенки винограда с 2-3 глазками из одревесневших побегов у сортов Агадаи, Хатми, Гюляби розовый и Нарма, которые культивировались в растворах солей NaCl и Na_2SO_4 (10^{-3}, 10^{-2}, 10^{-1} М). В концентрации растворов 10^{-1} М наблюдалось массовое выпадение черенков без образования корней и роста побегов. Сорта только отличались временем мацерации и почернения покровов черенков. У черенков всех сортов отмечено заметное угнетение процесса ризогенеза в растворе Na_2SO_4 10^{-2} М. На распускание почек и рост из них побегов этот раствор оказал меньше влияния. На накопление биомассы корней и побегов у черенков сортов Агадаи, Гюляби, Хатми раствор NaCl концентрации 10^{-3} М не оказал отрицательного эффекта. В тканях листа, побегов и корней определяли содержание ионов в растворах солей концентрации 10^{-2} М. При этом накопление ионов Na^+ заметно повышалось в корнях, чем в других структурах. Содержание катион K^+ в растворах солей уменьшалось. В надземных структурах (почки, листья, стебли) отмечено преобладание Ca^{2+}. Накопление анионов Cl^-, SO_4^{2-} отмечено во всех структурах. Однако больше всего оно проявлялось в листьях. Сорта заметно отличались уровнем локализации анионов. У отдельных из них ионы Cl^- локализуются больше в корнях, а ионы SO_4^{2-} в листьях и в стебле. Существенны различия реакции черенков у сортов на тип засоления среды. Они оказались более чувствительны к Na_2SO_4, чем NaCl, что отразилось на специфику сроков образования их корней и роста побегов, накопления биомассы новообразований, возникновения солевых ожогов листьев и апексов побегов. При этом у черенков сортов, где накопление анионов происходит больше в надземной части наблюдается ингибирование как формирования корней, так и накопления биомассы корней и побегов. В этом отношении черенки сортов Первенец Магарыча и Нарма отставали в регенерации.

В оценке устойчивости винограда к засолению приходиться вносить поправки, связанные с неодинаковым отношением разных структур к типу и уровню засоления. Прежде всего отмечена высокая чувствительность черенков всех сортов к сернокислому засолению. При этом незначительное повышение концентрации растворов сказывается на проявлении жизнеспособности черенков, особенно в растворе Na_2SO_4 10^{-2} М. Приходиться отмечать разную чувствительность корневой и надземных систем и неодинаковую степень солевых повреждений листьев и точек роста. Эти повреждения связаны с характером локализации ионов в структурах. Поэтому конкретизация вопроса о чувствительности сортов к засолению среды у винограда остается актуальным, и в этом отношении данный подход можно рассматривать, как один из путей моделирования солеустойчивости сортов винограда.

ФОТОСИНТЕЗ, ФОТОДЫХАНИЕ И ТЕМНОВОЕ ДЫХАНИЕ НА СВЕТУ В КЛЕТКАХ МЕЗОФИЛЛА ЛИСТА РАСТЕНИЙ ТУНДРЫ И ЭФЕМЕРОИДОВ

Photosynthesis, photorespiration, dark respiration in the mesophyll cells of leaf in the thundra plants and in the ephemeroides

Мамушина Н.С., Зубкова Е.К., Буболо Л.С., Чеботарева К.Е.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ботанического института им.В.Л. Комарова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия; zubkovaelena44@mail.ru

Исследовали элементы CO_2-газообмена (наблюдаемый фотосинтез, фотодыхание и темновое дыхание) у двух видов эфемероидов (*Ficaria verna*, *Anemona ranunculoides*) и двух видов рода *Ranunculus* - летневегетирующие растения (полевой газоанализатор системы LCA-4, температура 23˚С, стадия цветения). Одновременно изучали ультраструктуру клеток мезофилла листа у этих объектов. Показано, что интенсивность фотосинтеза, фотодыхания и темнового дыхания в 2-3 раза выше в листе эфемероидов, чем у летневегетирующих растений. При этом была обнаружена корреляция этого феномена с увеличением числа митохондрий и пероксисом в клетках мезофилла эфемероидов. Проведен сравнительный анализ величин вышеизученных показателей CO_2-газообмена с экспериментальными данными для *Ranunculus acris*, произрастающей в тундре Полярного Урала (температур 20˚С стадия цветения), которые были получены с применением газоанализатора “Infralit -4” (Герасименко и др. 1996). Оказалось, что и темновое дыхание и фотодыхание были также выше у северного растения, чем у *R. acris* из бореальной зоны. Этот факт также хорошо коррелирует с данными по изучению ультраструктуры клеток мезофилла листа рода Ranunculus, которые иллюстрируют также увеличение числа митохондрий и пероксисом у полярного вида (о. Врангеля) по сравнению с бореальным видом (Мирославов и др., 1999). Необходимо отметить, что при измерении показателей CO_2-газообмена листа в тундре авторы (Герасименко и др., 1996) делали допущение, что темновое дыхание листа растений Севера на свету не ингибировано, так как их активная вегетация проходит в условиях полярного дня. Ранее нами было показано, что на свету темновое дыхание в листьях эфемероидов на свету в условиях фотосинтеза также не подавлено, а может быть, и стимулировано (Мамушина, Зубкова, 1995).

В литературе общепринята точка зрения, что на свету фотодыхание и темновое дыхание в клетках мезофилла листа выполняют функцию защиты фотосинтетического аппарата от агрессивных форм кислорода в условиях высокой инсоляции (Heber et al., 1996, Adrianj Nunes-Nesi et al., 2011).

В заключении отметим, что в ходе эволюционной адаптации к жизни в условиях снеготаяния эфемероиды и растения тундры совершенствовали стратегию защиты процесса фотосинтеза от окислительного стресса при сочетании высокой инсоляции и низкой температуры на разных уровнях организации метаболизма клеток мезофилла листа. Эта система защиты включает сбалансированное функционирование фотодыхания и темнового дыхания в пероксисомах и митохондриях на свету, что обеспечивает активную ассимиляцию углерода при фотосинтезе у этих растений.

ПРИМЕНЕНИЕ ЗАЩИТНО-СТИМУЛИРУЮЩИХ КОМПЛЕКСОВ НА ОСНОВЕ ФИТОРОСТОРЕГУЛЯТОРОВ-АДАПТОГЕНОВ ПРИРОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ СЕЯНЦЕВ ХВОЙНЫХ ПОРОД В ЛЕСНЫХ ПИТОМНИКАХ

The use of protective-stimulating complexes based on growthregulators-adaptogens of natural origin when growing seedlings of conifers in forest nurseries

Манжелесова Н.Е., Шуканов В.П., Полякова Н.В., Корытько Л.А., Мельникова Е.В.

Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь
patphysio@mail.ru

Стоящие перед лесоводами задачи постепенного перехода лесного хозяйства к непрерывному и возобновляемому лесопользованию, повышению продуктивности древостоев и улучшению их качественного состава в настоящее время не потеряли своей актуальности. Один из способов их решения — искусственное восстановление лесов. Его эффективность тесно связана с качеством посадочного материала, т.е. его биологическим потенциалом и физиологическим состоянием, от которого зависят приживаемость и интенсивность роста культур. Эффективное питомническое хозяйство позволяет обеспечить сохранение и рациональное использование биоразнообразия лесов, повышение их продуктивности и устойчивости, поддержание средообразующей и природоохранной роли. Для повышения интенсификации и рентабельности работы лесных питомников требуется изыскание новых высокоэффективных научно обоснованных агротехнологий выращивания посадочного материала. Наибольший удельный вес при производстве посадочного материала приходится на ель европейскую (*Picea abies* (L.) Karst.) и сосну обыкновенную (*Pinus sylvestris* L.). Эти породы характеризуются ценными хозяйственными и биологическими свойствами, обладают высокими декоративными качествами и могут быть использованы не только в лесном хозяйстве, но и в озеленении городов. В связи о этим возрастает потребность в высококачественном посадочном материале, встает необходимость ускорить его выращивание. Основная масса сеянцев выращивается в условиях открытого грунта. При этом сокращение сроков выращивания сеянцев сдерживается напряженностью климатических и почвенно-грунтовых условий (медленное прогревание почвы и недостаток тепла весной, поздние весенние заморозки, не всегда удовлетворительный водно-воздушный режим почвы и другие факторы среды). Срок выращивания сеянцев растягивается, растения часто повреждаются и гибнут от болезней, снижается выход и качество посадочного материала. Повышению коэффициента использования семян и выхода стандартного посадочного материала с единицы площади могут способствовать технологические мероприятия, обеспечивающие управление ростом, т.е. получение особей с оптимальными параметрами. С этой целью необходимо внедрять новейшие достижения науки при выращивания посадочного материала, использовать современные экологически безопасные химические средства, в том числе стимуляторы роста и защитно-стимулирующие составы, предназначенные для предпосевной обработки семян, обработки корневых систем и вегетирующих растений.

В лаборатории физиологии патогенеза и болезнеустойчивости растений Института экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси проведены исследования по изучению влияния эндогенных регуляторов роста и композиционных составов на их основе на рост, устойчивость и качество сеянцев сосны и ели в лабораторно-полевых условиях. Показано, что при применении регуляторов роста, обладающих антибиотическим и иммуномодулирующими свойствами (Эпин, Экосил) в составе защитно-стимулирующих композиций в процессе обработки семян сосны и ели повышается жизнеспособность семян, улучшается фитосанитарное состояние семян, увеличивается устойчивость сеянцев к болезням, вызываемым фитопатогенными грибами. Выявлена также высокая эффективность внекорневой обработки сеянцев композиционными составами на основе фиторосторегуляторов с добавлением фунгицида и микроэлементов. Обработка путем опрыскивания по вегетирующей массе в фазу активного роста оказывала стимулирующее влияние на формирование растений, улучшая их морфометрические и физиолого-биохимические показатели. Разработанные технологических приемы интегрированного применения регуляторов роста могут быть использованы как элемент агротехнологии выращивания посадочного материала хвойных пород в лесных питомниках для профилактики и борьбы с грибными болезнями, увеличения выхода и качества посадочного материала.

ДЕЙСТВИЕ ГИПЕРБАРИЧЕСКОЙ ОКСИГЕНАЦИИ НА ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПОДСОЛНЕЧНИКА

The action of hyperbaric oxygenation on the physiological and biochemical indices of sunflower seedlings

Маркин Н.В.[1], Усатов А.В.[1], Азарин К.В.[1], Ковалевич А.А.[1], Горбаченко О.Ф.[2]

[1] *Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия; nmarkin@mail.ru*
[2] *Донская опытная станция им. Л.А. Жданова Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур, п. Опорный Ростовской области, Россия*

Устойчивость растений к действию повреждающих факторов среды во многом определяется уровнем функционирования антирадикальной защиты организма, снижение резервов которой непосредственно отражается на состоянии антиокислительного статуса – одного из центральных звеньев в молекулярных механизмах формирования неспецифической резистентности к воздействию стресс-индуцирующих факторов. Классическим способом моделирования окислительно-восстановительного дисбаланса является действие повышенного давления кислорода или гипербарической оксигенации (ГБО), воздействие которой индуцирует повышение образования свободных радикалов в тканях. Целью исследования было определение спектра физиолого-биохимических показателей у родительских линий и гибридов подсолнечника после воздействия гипербарической оксигенации моделируемой в лабораторных условиях. В качестве материала исследования использовали селекционный материал Донской опытной станции ВНИИМК. Гипербарическую оксигенацию проводили в барокамерах в режиме 0,7 МПа чистого кислорода в течение первых 10 ч прорастания семян. Обработанные и контрольные проростки высевали в лотки и выращивали в климатической камере при температуре 25°С, влажности 60%, фотопериоде 15 ч. Анализировали значения митотического индекса, всхожесть семян, высоту проростков на стадии развития семядолей и 1-2 пары листьев, а также интенсивность свободнорадикальных процессов и активность антиоксидантных ферментов.

Проведенное исследование выявило различия между линиями и гибридами подсолнечника различной генетической природы на действие повышенного давления кислорода. При действии ГБО на подсолнечник митотическая активность клеток в корневой апикальной меристеме проростков у всех исследованных образцов была подавлена. Однако на стадии семядолей и 1-2 пары листьев происходит синхронизация деления клеток, что приводит к восстановлению пролиферативной активности, на что указывают данные высоты растений. Была выделена группа гибридов, характеризующаяся наименьшим подавлением митоза в результате действия ГБО с последующим приближением пролиферативной активности к контрольным значениям.

Анализ хемилюминесценции показал, что в результате действия ГБО на линии и гибриды подсолнечника равновесие скорости образования активных форм кислорода и скорости детоксикации агентами антиоксидантной защиты сохраняется. Показано, что поддержание исходного уровня свободно-радикальных реакций после действия экстремальных факторов является следствием высокой активности ключевых элементов ферментативной антиоксидантной системы – СОД и каталазы. Высокая активность данных ферментов служит косвенным показателем устойчивости растений к различным стрессорным воздействиям. При одинаково высокой активности СОД, как в контроле, так и в опыте у всех исследуемых линий и гибридов подсолнечника, активность каталазы различается в широких пределах. Следовательно, можно предположить, что баланс свободно-радикальных процессов в данном случае поддерживается благодаря каталазной активности, а основной вклад в торможение пролиферации на начальных этапах развития вносит перекись водорода, а не супероксидный радикал. Подтверждением этому может служить отсутствие супероксидного радикала в клетках исследованных растений, как в норме, так и после обработки ГБО. У некоторых растений после действия ГБО происходит снижение уровня каталазы. Возможно, что в данном случае активно функционируют другие звенья защитной системы, в том числе и низкомолекулярные антиоксиданты. Анализ активности глутатионпероксидазы после обработки ГБО проростков выявил различия между изучаемыми формами подсолнечника, который позволил предположить, что резерв антиоксидантной защиты гибридов выше по сравнению с родительскими линиями. Данное обстоятельство подтверждают исследования кинетики хемилюминесцентного ответа, где у ряда гибридов показано снижение параметра $T2$, характеризующего скорость спонтанного обрыва цепей в реакциях свободнорадикального окисления. Это может свидетельствовать об увеличении скорости активизации антирадикальной защиты у таких гибридов.

Таким образом, в лабораторных условиях было проведено исследование спектра физиолого-биохимических показателей после воздействия гипербарической оксигенации на гибриды подсолнечника и их родительские линии. Модельный эксперимент показал более высокую по сравнению с родительскими линиями устойчивость гибридов к действию гипербарической оксигенации.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ, проект № 40.91.2014/К.

ЖИЗНЬ РАСТЕНИЙ И ЛИШАЙНИКОВ НА НЕСТАБИЛЬНЫХ ТЕРРИТОРИЯХ ПОБЕРЕЖИЙ ГОЛАРКТИЧЕСКИХ МОРЕЙ

The life of plants and lichens on unstable coastal areas of Holarctic seas

Марковская Е.Ф.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Петрозаводский государственный университет», Петрозаводск, Республика Карелия, Россия
volev10@mail.ru

Объект исследования – растительность и лихенобиота в специфической среде обитания на приливно-отливной зоне (ПОЗ) побережий Голарктических морей Северо-Запада России. Эта азональная природная структура, отличающаяся особыми чертами биологического разнообразия на генетическом, видовом, экосистемном и ландшафтном уровнях, характеризуется сходством ландшафтной организации и многоуровневой пространственной нестабильностью – условиями, которые прямо и/или опосредованно контролируются циркадной и лунной ритмикой. На приморских территориях сформировался уникальный галофитный флористический комплекс (морские травы и условно вторично-водные растения) и изучение механизмов адаптаций и адаптивных стратегий в условиях Голарктических морей, актуально в связи с концепциями «экстремальной экологии» в условиях прогрессирующего снижения видового разнообразия. Известно, что водные организмы, по сравнению с наземными, обладают меньшей экологической пластичностью. Используя методику (Cornelissen et al., 2003) нами определена пластичность (CV) растений и лишайников приливно-отливной зоны. Показано, что наиболее информативные структурно-морфологические признаки фототрофной компоненты приморской экосистемы имеют значения пластичности значительно выше, чем указано в методике Корнелисена для видов разных климатических зон и типов экотопов. Это означает, что высокая адаптационная пластичность, выработанная большинством видов растений и лишайников приморской зоны в процессе эволюции, позволяет им иметь большой резерв специфических структурно-функциональных путей, необходимых для приспособления к условиям ПОЗ. Растения даже в пределах ПОЗ одного типа берега могут оказаться в гетерогенных условиях по длительности заливания и изменчивости локальных экотопических и климатических условий (время нахождения организмов под столбом приливных вод связано с уклоном берега и структурой почвенного слоя). Сравнительное исследование анатомо-морфологических и функциональных особенностей листьев растений *Aster tripolium* L., растущих на разном расстоянии от линии уреза воды в отлив, это подтвердило. Выявились как структурные, так и функциональные различия. Функционально более активными оказались растения, находящиеся под водой в 2 раза дольше, чем растения у коренного берега, что дало основание для гипотезы о наличии у этого вида индуцибельного CO_2 концентрирующего механизма (ССМ), который актуален в условиях длинного фотопериода на Севере. Какие стрессы испытывают эти организмы в естественных условиях произрастания во время ПОЗ? Исследование проведено на *Triglochin maritima* L., испытывающем воздействие приливно-отливной динамики в естественных условиях его произрастания на приливно-отливной зоне. В ответную реакцию включаются реакции фотосинтеза и процессы водного режима. В периоды полного отлива и длительного нахождения под водой растения пребывают в состоянии стресса (F_v/F_m около 0,5) и выходят из него только во время динамичных процессов во время отлива и во время прилива. Эти два переходных процесса различаются, прежде всего, изменением условий освещения. В ответ на эти изменения ФА растений способен адаптироваться к уменьшению или увеличению освещенности. Эта адаптация сопровождается динамичными перестройками реакционного центра, скорости транспорта электронов, активности фотохимических окислительно-восстановительных реакций и в целом работы ФС II. Во время полного отлива и длительного нахождения под водой растения *Triglochin maritima* характеризуются различной функциональной активностью. Так, при отливе все показатели фотохимических реакций находятся в ингибированном состоянии на фоне фотосинтетической работы в условиях высокой освещенности, а при длительном нахождении растений под водой показано блокирование ферментативных реакций в темновой фазе фотосинтеза, при сохранении относительно эффективного переноса электронов в световой фазе, о чем свидетельствует снижение *NPQ* и увеличение *ETR*. Свойство полиморфизма, пластичность фотосинтетического аппарата активно используется зостерой морской *(Zostera marina* L.) в процессах адаптации. В результате выявлено, что этот вид обладает уникальной функциональной пластичностью, в реализацию которой включены все структурные и функциональные особенности ФА, что обеспечивает его широкую эврибионтность, сопровождающуюся высокими значениями продуктивности во всех точках его ареала. Полиморфизм, в том числе и пластичность фотосинтетического аппарата зостеры, оказался тем свойством, которое обеспечило восстановление вида и его продуктивность после массовой гибели во всем мире. Хотя вопросы оценки его биоразнообразия остаются открытыми. Системный подход, который был взят за основу этой работы, позволил подойти к пониманию жизни этой слабо изученной группы организмов в условиях их естественного произрастания.

СПЕКТРАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ РОСТОВЫХ И ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ *IN VITRO* И В УСЛОВИЯХ АЭРОПОНИКИ

Spectral regulation of growth and photosynthetic processes of potato plants *in vitro* and in aeroponics

Мартиросян Ю.Ц.[1], Кособрюхов А.А.[1,2]

[1] *Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия; yumart@yandex.ru*

[2] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук, Пущино, Россия; kosobr@rambler.ru*

В настоящее время при размножении растений в культуре *in vitro* используются люминесцентные лампы, а при выращивании в культивационных сооружения различного типа – светильники с газоразрядными лампами ДНАТ, с максимумом излучения в области 590 нм. Вместе с тем, использование этих ламп связано со значительными энергозатратами и ограниченными спектральными характеристиками. Возможным решением проблемы может быть применение в светокультуре растений облучателей с низкоэнергетическими светоизлучающими диодами (СД). В частности, эффективно использование светодиодных облучателей в универсальных аэропонных установках при размножении редких видов растений, конвейерном выращивании различных видов зеленных культур и производстве оздоровленного семенного посадочного материала картофеля.

В задачу работы входило исследование ростовых и фотосинтетических процессов растений картофеля в условиях различного спектрального облучения в культуре *in vitro* и в условиях аэропонного размножения оздоровленного материала. В первом случае, в качестве источников освещения растений использовали светодиодные облучатели красного (КС), синего (СС), зеленого (ЗС) и белого света, а также люминесцентную лампу в качестве контроля. Через 28 дней после начала эксперимента проводили измерение ростовых параметров растений: площади листьев, высоты растений, накопления ими биомассы, а также фотосинтетические параметры – накопление пигментов, скорость CO_2 газообмена при условиях выращивания и при различных уровнях интенсивности света, концентрации углекислоты. При выращивании в аэропонных установках использовали светодиодные облучатели с различным соотношением светодиодного спектрального излучения.

Растения, выращиваемые *in vitro* под люминесцентными лампами, показали наиболее высокую скорость роста (по накоплению биомассы надземной части). Несколько меньшее накопление биомассы растениями наблюдалось при их облучении светодиодами белого света. Действие синего света проявлялось в снижении накопления биомассы растениями на 40% по сравнению со светодиодами белого света, а при облучении светодиодами ЗС и КС снижение накопления биомассы составляло 65%.

Наблюдаемые изменения накопления сухого биомассы растениями при различных спектральных режимах облучения связаны с более высокой активностью фотосинтетического аппарата растений, выращиваемых при облучении СД белого и синего света. С целью определения активности отдельных звеньев фотосинтетического аппарата были построены углекислотные кривые фотосинтеза растений, выращиваемых при различных режимах с последующим анализом их по модели Фаркьюхара и др. Максимальная скорость и эффективность карбоксилирования наблюдалась при облучении растений СД белого и синего света. При облучении растений СД красного света и, особенно, зеленого света происходило значительное снижение скорости и эффективности карбоксилирования. В меньшей степени происходило снижение скорости электронного транспорта. При этом при облучении растений СД красного света скорость электронного транспорта была выше, чем при облучении СД синего света. Одновременно имело место снижение скорости утилизации триозофосфатов. Скорость темнового дыхания была выше у растений, выращиваемых под светодиодами синего света.

Проведено сравнительно изучение действия света различного спектрального состава (белого, синего, красного в различном соотношении) на характеристики продукционного процесса растений, выращиваемых в условиях аэропоники. Выяснены взаимосвязи отдельных физиологических процессов и спектрального состава облучения растений.

РОСТОСТИМУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ДЕЛЬТА-ЭНДОТОКСИНОВ *BACILLUS THURINGIENSIS*

Growth stimulating effect of delta-endotoxins of *Bacillus thuringiensis*

Мартяьнова Д.И., Каменек Л.К., Коршунова С.Н.

Ульяновский Государственный Университет, Ульяновск, Россия; myoctopus@rambler.ru

В настоящее время остро стоит проблема по сохранению урожая и его увеличения. Наиболее популярным является микробиометод. Бактериальные препараты на основе *Bacillus thuringiensis* активно применяются против вредителей. Преимущества данного препарата в его безопасности и стимулирующем действии.

Целью работы являлось у становить ростостимулирующее действие делта-эндотоксинов *Bacillus thuringiensis*.

В работе использовали один из промышленных подвидов продуцента дельта-эндотоксинов – *Bacillus thuringiensis* ssp.kurstaki z-52. Для инфекционного фона использования бактерии вида *Xanthamonas campestris*. Использовались семена фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris* L.) - сорт Вигна овощная Макаретти.

Трехдневные проростки с равными морфометрическими параметрами раскладывали в чашки Петри по 15 штук, повторность эксперимента 5-кратная. Исследуемые растения были разделены на три группы по воздействию на них разных концентраций дельта-эндотоксинов. В каждой группе было по 90 семян, которые разделили на 6 равных частей. Всего семян было 270. Были следующие варианты опыта: интактные растения (контроль), растения, проращиваемые в суспензии возбудителя, растения, постоянно проращиваемые в растворе дельта-эндотоксинов (0,01%; 1,5%; 3%), растения, растущие в среде суспензия возбудителя + дельта-эндотоксинов (0,01%; 1,5%; 3%), растения в течение часа находящиеся в дельта-эндотоксинах (0,01%; 1,5%; 3%) токсине, а затем промытые водой, растения, растущие в среде суспензия возбудителя + дельта-эндотоксины (0,01%; 1,5%; 3%) и растения, сначала обработанные суспензией возбудителя в течении трех часов, затем промытые водой и далее находящиеся в дельта-эндотоксинах (0,01%; 1,5%; 3%) в течении трех часов. Снова промытые дистиллированной водой и помещенные в чашку Петри в дистиллированную воду.

Через 24 ч после начала опыта наивысший показатель роста замечен у образцов, обработанных в токсинах с концентрацией 0,01 в течение одного часа. Растения контрольных групп практически не отличались друг от друга по исследуемым показателям. Различий между растениями, проросшими в суспензии возбудителя, также не выявлено. Через 48 ч после начала эксперимента было замечено отставание в росте опытных образцов помещенных в токсин с концентрацией 3% - 29,13 мм. Морфометрические значения роста длины корня в концентрации 1,5% оказались средними в данной группе, а самые высокие – 39,4 мм. Это на 0,13 мм больше в сравнении с контролем. В варианте опыта возбудитель + токсин изменений в опережении роста нет, но отмечена динамика к росту. Заметны изменения в среде возбудитель – токсин. На данном этапе наибольший рост отмечен у образца с концентрацией 0,01% - 35,53 мм. На третий день исследований качественные изменения отмечены в варианте опыта, в среде которого, образцы были обработаны токсином в течение часа. Среди всех значений отстают в росте растения находящиеся в среде с искусственным инфекционным фоном. На четвертые сутки исследований отмечается положительная динамика роста во всех вариантах опыта, кроме варианта постоянно находящегося под действием дельта-эндотоксинов *Bacillus thuringiensis* концентрации 3%. У некоторых растений данного опыта отмечена остановка в росте. Обнаружены нарушения покрова и появление потемнений на покровных тканях корня. Во всех остальных образцах изменений в росте по категориям не выявлено. Сохраняется высокий показатель роста растений, обработанных токсинами в течение одного часа. На пятый день исследований замечена гибель части образцов в среде с токсином 3%. Максимальное значение роста у представителей обработанных дельта-эндотоксинами концентрации 0,01% в течение одного часа. На шестой день исследований отмечен резкий рост осевого корня в среде, где растения были обработаны токсином с концентрацией 1,5% в течение одного часа. На седьмые сутки во всех показателях кроме опыта с токсином концентрация 3% отмечена положительная динамика роста. Негативные изменения стали заметны еще в середине эксперимента на третий день. Для данной категории четвертый день исследований стал переломным. Рост растений с концентрацией 0,01% статистически незначительно замедлился, а образцы с концентрацией 1,5% стали расти быстрее. Высокое значение сохранилось в варианте опыта, где растения были обработаны в токсине с концентрацией 1,5% в течение одного часа. Данное явление объясняется ростостимулирующем действием дельта-эндотоксинов *Bacillus thuringiensis*.

Нами было показано, что предварительная предпосевная обработка семян фасоли обыкновенной токсинами малых концентраций оказывает положительное действие на рост и развитие растений.

РЕГУЛЯЦИЯ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТОЙ СОСТОЯНИЯ ГЛУТАТИОНОВОГО ЦИКЛА В КОРНЯХ ПШЕНИЦЫ ПРИ ЗАСОЛЕНИИ

Salicylic acid regulates the status of glutathione cycle in the roots of wheat under salinity

Масленникова Д.Р., Шакирова Ф.М.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа, Республика Башкортостан, Россия; shakirova@anrb.ru

Проведен анализ влияния предобработки проростков пшеницы *Triticum aestivum* L. сорта Башкирская 26 салициловой кислотой (СК) в концентрации 50 μМ на показатель соотношения восстановленного (GSH) и окисленного (GSSG) глутатиона - GSH/GSSG и активность ключевых ферментов глутатионового цикла - глутатионредуктазы и глутатион-S-трансферазы в растениях, подвергнутых воздействию натрий - хлоридного засоления. Ранее нами было выявлено, что предобработка СК оказывает защитный эффект на ростовые процессы проростков, подвергнутых воздействию 2%-ного NaCl, о чем судили по сырой и сухой массе проростков, а также митотическому индексу корней. Важный вклад в проявлении защитного действия СК вносит ее способность регулировать баланс АФК и активности антиоксидантных ферментов, таких как супероксиддисмутаза и пероксидаза, выполняющих важную роль в поддержании окислительного гомеостаза клетки в стрессовых условиях. Низкомолекулярный антиоксидант глутатион и ферменты глутатионового цикла также вовлечены в поддержание окислительно-восстановительного баланса клетки. Для выяснения роли основных компонентов глутатионового цикла в формировании СК – индуцированной устойчивости растений к стрессу проведен сравнительный анализ показателей соотношения GSH/GSSG, а также активности глутатионредуктазы и глутатион-S-трансферазы в корнях необработанных и предобработанных СК проростков пшеницы в условиях засоления. Воздействие 2%-ного NaCl привело почти к двукратному падению показателя GSH/GSSG, что свидетельствует о развитии сильно выраженного окислительного стресса в этих растениях. Предобработанные СК, подвергнутые стрессу, растения характеризовались повышенным на 25-30% относительно контроля показателем соотношения GSH/GSSG в корнях на протяжении всего опыта. Этот эффект СК, вероятно, связан с ее способностью позитивно регулировать активность глутатионредуктазы, фермента катализирующего восстановление окисленного глутатиона в восстановленную форму. Обнаружено, что засоление вызывает увеличение активности глутатионредуктазы на 80-90% относительно контрольного уровня, тогда как предобработанные СК проростки в условиях стресса характеризуются дополнительной активацией этого фермента, что позволяет быстро восполнить пул GSH. Известно, что глутатион-S-трансфераза является важным ферментом детоксикации липидов клеточных мембран и играет важную роль в антиоксидантной защите клетки в стрессовых условиях. Анализ активности глутатион-S-трансферазы в корнях проростков пшеницы, подвергнутых засолению, выявил более чем двукратное повышение активности этого фермента. В корнях предобработанных СК проростков в условиях стресса активность глутатион-S-трансферазы поддерживалась на существенно меньшем уровне (50-60% от уровня контроля), что служит показателем меньшей степени повреждающего действия засоления на эти проростки и меньшего по уровню развития окислительного стресса в них. Маркером развития окислительного стресса в растениях может служить один из основных продуктов перекисного окисления липидов мембранных структур клетки - содержание малонового альдегида (МДА). Выявлено, что воздействие 2%-ного NaCl вызывает резкое двукратное увеличение концентрации МДА в проростках, тогда как предобработка СК способствует снижению уровня стресс-индуцированного накопления МДА, что свидетельствует о меньшей степени повреждающего действия натрий - хлоридного засоления на эти растения и эффективности предобработки СК с целью повышения устойчивости пшеницы к засолению.

Полученные результаты указывают на способность СК регулировать состояние основных компонентов глутатионового цикла, таких как показатель соотношения GSH/GSSG, активность ферментов глутатионредуктазы и глутатион-S-трансферазы в корнях проростков пшеницы при стрессе, что расширяет спектр проявлений протекторного действия СК на растения пшеницы.

ТРОПИЗМЫ ПОДЗЕМНЫХ ПОБЕГОВ: РОЛЬ СВЕТА В РОСТОВОЙ ОРИЕНТАЦИИ КОРНЕВИЩ И СТОЛОНОВ

Underground shoot tropism: the role of light in stolons and rhizomes growth orientation

Маслова С.П., Головко Т.К.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, Сыктывкар, Россия; maslova@ib.komisc.ru

Свет и гравитация являются основными факторами среды, регулирующими рост и развитие растений. В этом аспекте большой интерес представляют виды растений с подземными горизонтально растущими (гипогеодиагравитропными) побегами – столонами и корневищами, а также ползущие травы с надземными горизонтально растущими (эпигеодиагравитропными) побегами – столонами, усами, плетями. В отличие от надземных ортотропных побегов, корневища и столоны продолжительное время или постоянно растут в горизонтальном положении под или на поверхности почвы, не проявляя грави- и фототропических реакций. Периодически конус нарастания корневищ и столонов формирует почки, которые затем переходят в надземный побег (сармент). Апикальная часть сармента в процессе определенного периода подземного горизонтального роста дифференцируется и формирует фотофильный гистологический комплекс – листовые примордии. Показано, что ориентация роста подземных побегов разного типа не зависит от продолжительности фотопериода, обработки фитогормонами и декапитации надземного побега (Маркаров, Головко, 1995). Ориентация роста боковых почек не контролируется апикальной почкой подземного побега. Реакция боковых почек зависит от условий их заложения: почки: сформированные в темноте проявляли отрицательный фототропизм, на свету – положительный (Маркаров, Головко, 1995; Маслова, 2001). Автономность ростовых реакций подземных побегов, их латеральных зон обеспечивает наличие постоянного фонда подземных почек, отрастание и возобновление фитоценозов, формирующихся в широком диапазоне экологических условий (Маслова, 2014). В опытах по влиянию света на морфогенез корневищ, столонов и сарментов было доказано, что ориентация роста подземных побегов контролируется фитохромной системой (Маркаров, 1994, 1996; Маркаров, Головко, 1995). Фитохром в форме красного обуславливает поддержание горизонтального роста корневищ и столонов под поверхностью почвы, а фитохром в форме дальнего красного препятствует выходу верхушки побегов на поверхность. Регуляторные функции фитохрома реализуются в зависимости от процессов органообразования конуса нарастания подземного побега. Фотофобный период развития подземного побега характеризуется образованием метамеров с чешуевидными листьями, диагравитропизмом, отрицательным фототропизмом. В фотофильный период происходит образование зеленых листьев, побеги проявляют положительный фототропизм.

В настоящее время достигнут значительный прогресс в изучении механизмов гравитропизма и фототропизма корней и побегов, участия различных фоторецепторов и их взаимодействия в регуляции этих процессов. Показана роль фитохромов в гравитропизме и фототропизме побегов и корней *Arabidopsis thaliana* (Kiss et al., 2003; Correl, Kiss, 2005; Kumar et al., 2008; Hopkins, Kiss, 2012). Красный свет индуцирует положительный фототропизм в корнях *Arabidopsis* (Kiss et al., 2003), а рецепция светового сигнала осуществляется непосредственно в этих гетеротрофных органах (Hopkins, Kiss, 2012). Центральная роль в регуляции фото- и гравитропизма гипокотиля и корня принадлежит фитохром-киназному субстрату (*PKS1-PKS4*) – мембрано- связанному белку, который взаимодействует с фитохромом, криптохромом и фототропином (Lariguet et al., 2003, 2006; Boccalandro et al., 2008; Molas, Kiss, 2008). Экспрессия белка *PKS1* под действием синего света при участии фитохрома *A*, вторично абсорбирующего синий свет, осуществляется в субапикальной зоне корня и вызывает отрицательный фототропизм и положительный гравитропизм этого органа. Однако, практически ничего не известно о молекулярных механизмах морфогенеза гипо- и эпигеодиатропных побегов, фитохромной регуляции фото- и диагравитропизма столонов и корневищ. Единичны сведения об экспрессии генов белков, участвующих в регуляции деятельности подземных меристем, контролирующих фотофобный и фотофильный этап органогенеза верхушечной почки подземного побега. Новейшие исследования доказывают присутствие фотосинтетических генов (белков фотосистемы I и II, хлорофилла *a*, апопротеина A1 и фототропина-2) в меристематической зоне гетеротрофных тканей корневища (Ruifeng et al., 2012), экспрессия которых может происходить на фотофильном этапе морфогенеза подземных почек под действием света. Проблема изучения регуляции фотоморфогенеза, ростовых ориентаций подземных побегов имеет большое практическое значение, так как спектральный состав света является одним из основных факторов, определяющих интенсивность побегообразования, продуктивность и устойчивость ценопопуляций.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ_СЕВЕР № 13-04-98829 и правительства Республики Коми.

РОЛЬ КАРОТИНОИДОВ В ФОРМИРОВАНИИ ЗАЩИТЫ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ОТ ФОТОДЕСТРУКЦИИ В УСЛОВИЯХ ЗИМЫ И РАННЕЙ ВЕСНЫ У ЗИМНЕЗЕЛЕНЫХ ПОКРЫТОСЕМЕННЫХ РАСТЕНИЙ

The role of carotinoides in the defence of photosynthetic appatus from the photodestruction during winter and early spring in evergreen plants

Маслова Т.Г., Мамушина Н.С., Зубкова Е.К., Тютерева Е.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ботанического института им.В.Л.Комарова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия; zubkovaelena44@mail.ru

Вечнозеленые зимневегетирующие растения высоких широт испытывают в ходе вегетации действие низкой температуры в сочетании с высокой инсоляцией, подвергаясь угрозе фотоингибирования. Эта опасность возрастает вследствие того, что из-за низкой температуры не вся световая энергия, поглощенная зеленым листом используется в процессе ассимиляции CO_2 (Öquist et al., 2003). Объектами исследования были два вида зимне-зеленых покрытосеменных растений, растущих на территории парка БИНа – *Rhododendron catawbiense* Michx. и *Pachysandra terminalis* Siebold et Zucc.

В ходе вегетации были определены потенциальная интенсивность фотосинтеза (при 1% CO_2), содержание пигментов пластид. Особое внимание уделялось функционированию виолаксантинового цикла (ВЦ).

Ранней весной (в марте) все растения, вышедшие из под снега, сохраняли зеленую окраску. В этот период у всех исследованных растений интенсивность фотосинтеза была минимальной. С повышением температуры (апрель) интенсивность фотосинтеза возрастала.

Содержание хлорофиллов и каротиноидов весной у всех исследованных растений было несколько ниже, чем у летних вариантов.

Во все сроки вегетации у обоих видов довольно постоянной была величина свето-собирающего комплекса (ССК) – 40-50% (доля от общего содержания хлорофиллов). Такое постоянство свидетельствует об устойчивости ССК во все времена года.

При исследовании превращений каротиноидов – участников виолаксантинового цикла (ВЦ) была получена картина – сходная для обоих видов. В качестве иллюстрации приведем данные опытов, проведенных на листьях *Pachysandra terminalis.* При низких температурах воздуха (в ноябре – марте месяце) количества виолаксантина и зеаксантина при освещении листьев не изменялось. Это означает, что прямая реакция ВЦ в это зимнее время не проходила.

В апреле при повышении температуры воздуха (8-10°С) начинается процесс фотосинтеза и проходит прямая реакция ВЦ – уменьшается количество виолаксантина и возрастает зеаксантин. Однако обратная реакция цикла, превращение зеаксантина в виолаксантин проходит только в конце апреля при существенном повышении температуры (до комнатной).

Таким образом, на примере зимне-зеленого растения *Pachysandra terminalis* показана сходная температурная зависимость работы ферментов – и фотосинтетических (цикл Кальвина) и ксантофиллов ВЦ. Наиболее чувствительным оказался фермент обратной реакции цикла – зеаксантин – эпоксидаза.

Можно сделать вывод, что весной в холодный период года из-за торможения обратной реакции цикла происходит накопление ксантофилла – зеаксантина. Именно этому ксантофиллу отводится очень существенная роль в защите фотосинтетического аппарата от фотоингибирования (Demming-Adams, 1990).

Структурно зеаксантин находится в непосредственной близости к хлорофиллу в хлорофилл-белковом комплексе листа, что обуславливает их непосредственное взаимодействие.

Была обнаружена прямая пропорциональность между количеством зеаксантина в листе и нефотохимическим тушением флуоресценции хлорофилла. Это указывает на взаимосвязь зеаксантина и хлорофилла в его опасном возбужденном синглетном состоянии, которое зеаксантин «тушит» в ходе взаимодействия.

Важным также является взаимодействие зеаксантина и активных форм кислорода, где зеаксантин является тушителем и защитником хлорофиллов и липидов от их переокисления, что обеспечивает устойчивость фотосинтетического аппарата, например, при высокой интенсивности света.

В заключение отметим, что у исследованных вечнозеленых растений, адаптированных в ходе интродукции к произрастанию в высоких широтах, отсутствует процесс фотодеструкции в условиях зимы, так как они обладают системой защиты фотосинтетического аппарата пластид клеток мезофилла. Основу этой системы составляют каротиноиды – пигменты виолаксантинтинового цикла, особенно, зеаксантин.

МОЛЕКУЛЯРНОЕ КЛОНИРОВАНИЕ АТФ-аз Р-типа МОРСКОЙ МИКРОВОДОРОСЛИ *DUNALIELLA MARITIMA:* ГДЕ СПРЯТАН ГЕН Na+-АТФазы?

Molecular cloning of P-type ATPases from marine alga *Dunaliella maritima*: where the Na+-ATPase gene is hidden?

Маталин Д.А.[1], Шувалов А.В.[1], Беляев Д.В.[1], Юрченко А.А.[2], Попова Л.Г.[1]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия; lora_gp@mail.ru*

[2] *Санкт-Петербургский государственный университет, Центр геномной биоинформатики им. Ф.Г. Добржанского, Санкт-Петербург, Россия; andreyurch@gmail.com*

У микроводорослей, обитающих в соленых средах, внутриклеточные концентрации Na^+ существенно ниже, чем в наружной среде. Это обусловлено работой специализированных механизмов в плазматических мембранах, которые осуществляют активный экспорт Na^+ из клеток в наружную среду. У морских микроводорослей функцию экспорта Na^+ из цитоплазмы выполняет Na^+-транспортирующая АТФаза, относящаяся к семейству АТФаз Р-типа. Na^+-АТФазы у микроводорослей были прямо продемонстрированы на функциональном уровне, в экспериментах на препаратах выделенной из клеток микроводорослей плазматической мембраны. В дальнейшем, экспериментальные данные о Na^+-АТФазах у микроводорослей нашли подтверждение в биоинформатических исследованиях. В геномах ряда видов морских водорослей найдены гены Na^+-транспортирующих АТФаз.

Морская микроводоросль *Dunaliella maritima* относится к большому семейству одноклеточных зеленых микроводорослей Dunaliellaceae, представители которого распространены в водах морей и соленых водоемов. В экспериментах на выделенных из клеток *D. maritima* везикулах плазматической мембраны показано, что в плазмалемме этой микроводоросли функционирует Na^+-транспортирующая АТФаза. Представленная работа посвящена поиску гена Na^+-АТФазы *D. maritima*.

Биоинформатический анализ массива аминокислотных последовательностей Na^+-АТФаз (животных клеток, дрожжей, морских водорослей), имеющихся в базах NCBI, показал, что у Na^+-АТФаз в аминокислотной последовательности не обнаруживается ни одного высококонсервативного участка, характерного именно для этих ферментов. Вместе с тем, Na^+-АТФазы эукариот принадлежат классу АТФаз Р-типа, в структуре которых есть ограниченное количество коротких консервативных аминокислотных мотивов, характерных для всех АТФаз Р-типа. На основе двух наиболее консервативных аминокислотных мотивов, DKTGTLT и TGDGVND, были созданы вырожденные нуклеотидные последовательности-праймеры, которые были использованы для поиска Na^+-АТФазы *D.maritima* методом полимеразной цепной реакции.

Культуру водоросли *D. maritima* выращивали в среде, содержащей 0,5 М NaCl. Из клеток, взятых на поздней логарифмической фазе роста, методом горячей фенольной экстракции была выделена тотальная РНК, на матрице которой затем была получена кДНК. На основе синтезированной кДНК методом ОТ-ПЦР с использованием подобранных праймеров был амплифицирован фрагмент ДНК, который затем был клонирован. Дальнейшее секвенирование показало, что полученный фрагмент размером 766 нуклеотидов идентичен срединному фрагменту H^+-АТФазы плазматической мембраны экстремально галотолерантной микроводоросли *D. salina* (GenBank ID: ABB88698.1). Для амплификации фрагментов ДНК методом ОТ-ПЦР был также использован другой прямой праймер, созданный на основе аминокислотной последовательности I(C,A)SDKT, которая является характерной для Na^+- и Ca^{2+}-АТФаз, но не для H^+-АТФаз. Использование этого праймера не позволило идентифицировать какой-либо фрагмент, кодирующий АТФазу Р-типа. Параллельно были проанализированы аннотированные в базе данных SRA (DNA and RNA Sequence Read Archive) транскриптомы родственной микроводоросли *Dunaliella tertiolecta* (SRA ID: SRX047443, SRX047444, SRX549041, SRX554105, SRX554106) с целью поиска транскриптов АТФаз Р-типа и, в частности, Na^+-АТФаз. Функционирование Na^+-АТФаз у морских водорослей не вызывает в настоящее время сомнений, однако, вопреки ожиданиям, в транскриптомах *D.tertiolecta* не было обнаружено нуклеотидной последовательности, кодирующей белок, который можно было бы однозначно отнести к группе Na^+-транспортирующих АТФаз. Вместе с тем, в каждом из транскриптомов были обнаружены транскрипты двух различных H^+-АТФаз Р-типа – ферментов, функционирующих в плазматической мембране. Одна из H^+-АТФаз, HA1 *D. tertiolecta*, оказалась идентична H^+-АТФазе плазматической мембраны микроводоросли *D. bioculata*, а другая, HA2 *D. tertiolecta*, - идентична H^+-АТФазе плазматической мембраны галотолерантной микроводоросли *D. salina*. Сходство двух H^+-АТФаз, из *D. salina* и *D. bioculata*, и, соответственно, двух H^+-АТФаз из *D. tertiolecta*, между собой невелико (около 40% идентичных аминокислотных остатков). Маловероятно, что в плазмалемме у одноклеточной микроводоросли *D. tertiolecta* функционируют две различные протонные помпы. Обсуждается гипотеза, что из двух H^+-АТФаз, транскрипты которых найдены в транскриптоме *D. tertiolecta,* один фермент переносит протоны, тогда как другой может переносить ионы Na^+.

Исследование поддержано грантом РФФИ № 13-04-01098 и грантом Правительства РФ № 1.G34.31.0068.

РАСТЕНИЕ И ГРАВИТАЦИЯ

Plants and gravity

Медведев С.С.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; ssmedvedev@mail.ru

Гравитация является одним из наиболее важных поляризованных факторов внешней среды и надежным ориентиром, определяющим развитие растений в пространстве. Направление и величина гравитационного стимула постоянны в течение всего онто- и филогенеза растения. Поэтому наземные растения используют вектор силы тяжести для коррекции положения их тела в пространстве.

Именно гравитация позволяет растениям формировать физиологические оси полярности и ориентировать их рост и развитие в пространстве. Каждое растение способно «оценивать» свое положение относительно вектора силы тяжести и при необходимости корректировать его за счет поляризованного роста. Ключевой ответной реакцией растения на действие силы тяжести является гравитропизм, т.е. направленный рост органов относительно вектора гравитации. Самое известное проявление гравитропизма рост побегов вверх, против действия силы тяжести (отрицательный гравитропизм) и рост корней вниз, сонаправленно вектору гравитации (положительный гравитропизм). Другим проявлением гравитропизма является формирование изгибов органов растения в ответ на изменение его ориентации в пространстве. Благодаря таким гравитропическим изгибам восстанавливается вертикальный рост побегов и корней. Гравитропизм, в сочетании с фототропизмом и гидротропизмом, определяет оптимальное положение побега и корня в пространстве относительно солнечного света, источников воды и минеральных солей.

Участие силы тяжести в процессах роста и дифференцировки растений обычно анализируют, применяя такие методические приемы, как *клиностатирование* (вращение объекта в разных плоскостях и с различной скоростью), *микрогравитация* (выращивание растений в условиях орбитальных космических станций) *центрифугирование* и *гравистимуляция* (т.е. изменение угла ориентации осевых органов растений относительно вектора силы тяжести). В докладе будет сделан акцент на сравнительном анализе механизмов отрицательного гравитропизма побегов и положительного гравитропизма корней растений. Будет проанализирована роль фитогормонов, цитоскелета, ионов Ca^{2+} и механики клеточной стенки в механизмах ориентации растений в пространстве. Будут показаны ключевые метаболиты, изменение уровня которых изменяется при клиностатировании и коррелирует с гравитропической реакцией растений. Понимание механизмов ориентации растительных организмов относительно вектора силы тяжести позволит предложить эффективные технологии растениеводства и новые способы выращивания растений в условиях микрогравитации на орбитальных космических станциях и при длительных полетах человека в космосе.

Работа выполнена с использованием оборудования РЦ СПбГУ «Развитие молекулярных и клеточных технологий», за счет средств НИР СПбГУ № 1.38.233.2014 и гранта РФФИ № 14-04-01-624.

РОЛЬ КЛЕТОЧНЫХ СТЕНОК В МИНЕРАЛЬНОМ ПИТАНИИ РАСТЕНИЙ

The role of cell walls in plant mineral nutrition

Мейчик Н.Р.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия; meychik@mail.ru

Клеточная стенка корня (КС), являющаяся частью апопласта – сложноорганизованная и многофункциональная система. Этот экстраклеточный компартмент первым контактирует с наружным раствором и модифицирует его состав за счет реакций обмена между ионогенными группами полимерного матрикса и ионами среды, тем самым регулируя поступление веществ в корни растений. Эффективность такой модификации определяется физико-химическими свойствами стенки, которые находятся под контролем клетки: КС являются не только чрезвычайно сложными, но и динамичными системами, состав и организация которых могут изменяться в процессе онтогенеза и под действием внешних факторов.

Оценка физико-химических характеристик КС корня с использованием методов химии полимеров позволила выявить существенные механизмы, контролирующие поглощающую способность корней как в нормальных, так и экстремальных условиях минерального питания, получить информацию о том, как модифицируются свойства апопласта в разных условиях питания, какова роль физико-химических свойств КС в минеральном питании и водном режиме растений в разных условиях окружающей среды. Установлено, что ионообменные свойства КС отличаются не только у растений разных систематических групп, но изменяются также в разных тканях одного растения. Принято считать, что сосуды проводящих элементов, обеспечивающие дальний транспорт воды и ионов по ксилеме и относящиеся к апопласту, служат для переноса массового транспирационного тока. Наши результаты расширяют эти представления, демонстрируя взаимодействие катионов раствора и ионогенных групп КС сосудов, вследствие чего состав восходящего тока может претерпевать изменения, характер которых зависит также от условий минерального питания. Показано, что КС сосудов ксилемы представляют собой компартмент, одна из физиологических функций которого заключается в поддержании ионного гомеостаза в клетках растущих органов при изменении условий питания.

Клеточная стенка – природный ионообменник, является твердой мембраной, а происходящие в ней процессы набухания, взаимодействие с водой, определяют ее осмотическое давление. Выявлено, что изменение в набухании, которое определяется физико-химическими свойствами КС, в ответ на варьирование внешних или внутренних условий, представляет собой элемент механизма регуляции объемного тока воды по корню.

В физиологии минерального питания принята точка зрения о том, что, исследуя кинетику поглощения иона, можно разграничить его транспорт в КС и транспорт через клеточную мембрану. В типичной экспоненциальной кривой, описывающей поглощение катиона во времени, выделяют две фазы. Первая – быстрая (транспорт по апопласту), с периодом полунасыщения ($t_{1/2}$) порядка нескольких минут и вторая – медленная (транспорт по симпласту), с $t_{1/2}$, равным нескольким часам. Результаты нашего исследования показывают, что диффузия – самая медленная стадия ионного обмена – имеет большое значение в процессах поглощения ионов корнями растений, а экспоненциальный вид кинетической кривой не может служить критерием для разграничения путей транспортирования иона (симпласт или апопласт).

Оценка ионообменных свойств полимерного матрикса КС разных по солеустойчивости растений позволила представить последовательность событий, происходящих с участием КС в ответ на солевой стресс. С увеличением концентрации NaCl в среде и у галофита, и у гликофитов (а) увеличивается адсорбционная способность КС в отношении Na^+, (б) раствор у плазмалеммы будет содержать меньше ионов натрия, чем внешний раствор, (в) за счет ионообменных реакций увеличивается концентрация протонов и ионов кальция в водной фазе апопласта, что приведет к изменению транспортных функций плазматической мембраны. Показано, что ионообменные реакции в КС являются важным специфическим звеном в развитии реакций устойчивости растений на действие засоления.

Принято считать, что КС могут связывать ионы тяжелых металлов, при этом это свойство КС зависит от количества таких функциональных групп в оболочке, как –COOH, –OH and –SH. Наши результаты исследования адсорбционной способности КС в отношении Ni^{2+} и Cu^{2+} позволили установить, что (1) гидроксильные группы не участвуют в связывании Me^{2+}; (2) наряду с карбоксильными группами полигалактуроновой кислоты в связывании Me^{2+} принимают участие карбоксильные группы гидроксикоричных кислот; (3) аминокислотные остатки участвуют в связывании Me^{2+} посредством образования координационных связей с Me^{2+}. Для определения роли внеклеточного механизма защиты клеток корня от воздействия ТМ нами проведена сравнительная оценка накопления Ni^{2+} и Cu^{2+} корнями транспирирующих растений и КС корней *Triticum aestivum* L. и *Vigna radiata* (L.). Результаты дают основание полагать, что в некоторых диапазонах концентраций Me^{2+} депонирование Ni^{2+} и Cu^{2+} в клеточные стенки *T. aestivum* и *V. radiata* является основным механизмом защиты клеток от воздействия избыточных концентраций этих токсичных ионов.

РОЛЬ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ В ФОРМИРОВАНИИ БОЛЕЗНЕУСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ РЖИ (*SECALE CEREALE* L.)

The role of free amino acids in the formation of disease resistance in rye plants

Мельникова Е.В., Корытько Л.А.

Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь
fr_lm@mail.ru

Свободным аминокислотам отводится особая роль в пато- и иммуногенезе растительного организма. Важность этих соединений в протекании как защитных, так и патологичесих реакций объясняется их полифункциональностью: они обеспечивают детоксикацию свободного аммиака, поставку углеводородных скелетов для энергетического метаболизма, синтеза белков и фитогормонов и др. Наше внимание было привлечено к изучению состава свободных аминокислот в динамике развития хлорозной и некротической защитных реакций ржи от ржавчинной инфекции в трех модельных биологических системах (устойчивой, восприимчивой и несовместимой).

Опыты проводились на растениях ржи (*Secale cereale* L.) с. Игуменская, восприимчивой к бурой листовой ржавчине (*Puccinia dispersa* Erikss. et Henn), но проявляющей хлорозную защитную реакцию при контакте с корончатой ржавчиной овса (*Puccinia coronifera* Kleb.). Влияние аминокислотного состава на развитие некротической защитной реакции изучали на устойчивом полудиком подвиде ржи Державина, инфицированном *P. dispersa*. В ходе исследований были определены следующие аминокислоты: глутаминовая, аспарагиновая, аланин, валин, лизин, глицин, лейцин, изолейцин, пролин, серин, треонин и фенилаланин.

Повышение суммарного содержания свободных аминокислот в восприимчивой патосистеме шло параллельно прогрессированию болезни и достигало на последней стадии 147%, а в несовместимой – уменьшалось на 18%. В устойчивой патосистеме количество индивидуальных аминокислот колебалось в пределах близких к контролю или слегка повышалось (в среднем на 10%). Таким образом, полученные нами данные позволяют предположить, что при развитии хлорозной защитной реакции ржи включаются механизмы ингибирования синтеза свободных аминокислот, необходимых для развития ржавчинного гриба, тогда как в восприимчивой патосистеме, биосинтез аминокислот увеличивается, что и создает благоприятные условия для роста мицелия и развития органов спороношения патогена. В развитии некротической защитной реакции изменение уровня аминокислот незначительно и имеет второстепенное значение. Выделяют группу «стрессовых» аминокислот, которые принимают участие в общем адаптивном ответе растительного организма на стрессоры, в том числе и на внедрение патогена. К ним относят аланин, фенилаланин, пролин, являющиеся нейтрализаторами активных форм кислорода, токсичных как для растительных тканей, так и для ржавчинного гриба. В наших исследованиях уровень этих аминокислот существенно повышался (на 60-100%) только на первой стадии патогенеза в растениях культурной ржи, инфицированной неспецифической для нее корончатой ржавчиной овса, а при дальнейшем развитии болезни резко снижался до контрольного, что указывает на подавление инфекции на начальном этапе патогенеза. В восприимчивой и устойчивой комбинациях (культурная рожь Игуменская и полудикая рожь Державина инфицированные *P. dispersa*) наблюдалось постепенное возрастание содержания этих аминокислот, сопровождающееся развитием мицелия патогена в тканях растений. Нами были предприняты попытки привлечь эту жизненно важную группу соединений в качестве индукторов защитных реакций растений к болезням. Для этого было изучено влияние предпосевной обработки семян ржи различными концентрациями (10^{-4}–10^{-6} М) «стрессовых» аминокислот на болезнеустойчивость к бурой листовой ржавчине. Исходя из результатов визуальной оценки, обработка семян ржи растворами аминокислот снижала степень поражения листьев: пролином – на 10-20%, аланином – на 10-15%, фенилаланином – на 5–15% по сравнению с инфицированным контролем. Проведение биохимических исследований также подтвердило иммунизирующее действие предпосевной обработки семян растворами аминокислот. Так, на начальных этапах патогенеза в опытных образцах уровень содержания продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) был близким к необработанному инфицированному контролю или несколько ниже его. При дальнейшем развитии болезни наблюдалось снижение содержания продуктов ПОЛ при обработке фенилаланином – на 10%, пролином – на 10-20% по сравнению с инфицированным контролем. Варианты обработок аланином были близки к контрольному уровню. Понижение уровня перекисного окисления липидов свидетельствует о большей стабильности клеточных мембран в данных вариантах, а, следовательно, более высокой резистентности растений. Предобработка семян растворами аминокислот также оказывала положительное влияние на работу фотосинтетического аппарата, что подтверждалось повышением содержания хлорофиллов ($a+b$) и каротиноидов в листьях ржи на 10-15% (обработка семян фенилаланином), 15-20% (аланином) и 20-28% (пролином) в сравнении с инфицированным контролем в первые дни патогенеза. Таким образом, все выбранные нами аминокислоты в той или иной мере повышали устойчивость растений ржи к ржавчинной инфекции, при этом наибольшие иммуностимулирующие свойства проявлял пролин во всех исследуемых концентрациях.

ВЛИЯНИЕ КЛИМАТА НА ТРЕХМЕРНУЮ СТРУКТУРУ МЕЗОФИЛЛА ЛИСТА *BETULA PENDULA* И *B. PUBESCENS*

Climate influence on 3D-structure of leaf mesophyll in *Betula pendula* and *B. pubescens*

Мигалина С.В.[1], Иванова Л.А.[1], Косульников В.В.[2], Мизгулин В.В.[2], Кадушников Р.М.[2]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ботанический сад Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Россия; Fterry@mail.ru*
[2] *Общество с ограниченной ответственностью «СИАМС-СЕРВИС», Екатеринбург, Россия*

Хорошо известно, что структура листа может существенно изменяться в зависимости от экологических условий. Ключевое значение для адаптации фотосинтетического аппарата к условиям среды имеет пространственная организация мезофилла, лимитирующая процессы внутрилистового газообмена. Существует достаточно большое количество работ, описывающих изменение количественных параметров мезофилла тех или иных видов под воздействием экологических факторов. Вместе с тем, исследования касаются чаще всего отдельных параметров структуры, в то время как изменение пространственной организации мезофилла как единой системы остается неизученным. Целью нашей работы было изучить изменение трехмерных интегральных параметров структуры мезофилла листа двух систематически близких видов берез в зависимости от климатических условий произрастания.

Образцы листьев отбирали в природных популяциях *Betula pendula* и *B. pubescens* из степи и северной тайги, резко различающихся по климатическим условиям. Количественные параметры мезофилла, а также парциальные объемы тканей листа изучали с применением системы компьютерного анализа изображений (SIAMS Mesoplant, ООО «СИАМС-СЕРВИС», Екатеринбург) и специально разработанного программного обеспечения для трехмерной реконструкции клеточной упаковки листа (SIAMS Mesoplant 3D-Model).

Полученные результаты показали, что оба вида имели сходные изменения ключевых структурных параметров мезофилла при смене климатических условий. Обнаружено значительное (1.5–2-кратное) увеличение размеров клеток палисадного и губчатого мезофилла в северных популяциях берез, по сравнению с южными. Увеличение размеров клеток в северо-таежной подзоне было сопряжено с уменьшением поверхностно-объемного отношения (S/V) мезофилла. Северные популяции берез отличались также более низкими (на 11-12%) значениями количества клеток в единице листовой поверхности. Анализ парциальных объемов тканей показал, что доля мезофилла в листе не зависела от климата и определялась видовой принадлежностью популяций. Для *Betula pendula* отмечены более высокие средние величины данного параметра (на 3-6% больше в сравнении с *B. pubescens*).

Вместе с тем, трехмерная реконструкция листьев берез показала существенные изменения трехмерной структуры мезофилла берез в зависимости от климата. Для обоих видов обнаружено увеличение плотности клеточной упаковки палисадной и губчатой ткани в северных популяциях вследствие возрастания размеров клеток мезофилла. Листья берез из северной тайги отличались также более высокими величинами отношения общей площади поверхности мезофилла к площади листа (34-35, по сравнению с 29-30 в степных популяциях). Кроме того, у обоих видов в северной точке отмечено значительное уменьшение свободной поверхности мезофилла, обращенной в межклеточные воздушные пространства, и соответственно, увеличение доли поверхности клеток, занятой межклеточными контактами (у *Betula pendula* с 10% в степи до 30% в северной тайге, а у *B. pubescens* – с 7% до 33%, соответственно). Кроме того, в северных популяциях обнаружено снижение поверхностно-объемного отношения клеток на 9%, и значительно более существенное снижение отношения «свободной» поверхности мезофилла в целом к его объему (на 30-34%). Указанные изменения трехмерной структуры листа имеют прямое влияние на скорость диффузии CO_2 из межклеточных пространств к местам карбоксилирования в хлоропластах, а также для диффузии молекул воды из клеток в межклетники. Так, например, согласно законам Фика, скорость диффузии газов прямо пропорциональна общей поверхности клеток и отношению поверхность/объем клетки. Кроме того, известно, что скорость газообмена через «свободную» поверхность клеток в несколько раз выше, чем через клеточные контакты. Таким образом, установлено, что при смене климатических условий у двух видов берез при неизменной доле мезофилла в листе происходит изменение его трехмерной организации, обеспечивающее регуляцию внутрилистового газообмена. Увеличение на севере плотности клеточной упаковки, общей поверхности мезофилла, доли межклеточных контактов, сопряженное с уменьшением поверхностно-объемных соотношений ассимилирующих тканей, направлено на поддержание оптимальной для холодного климата скорости диффузии газов внутри листа.

КАК РАБОТАЮТ РАСТИТЕЛЬНЫЕ МУСКУЛЫ ИЛИ ЗАЧЕМ ЦЕЛЛЮЛОЗНЫМ ВОЛОКНАМ МАТРИКСНЫЕ ПОЛИСАХАРИДЫ?

How do the plant muscles work or why are matrix polysaccharides necessary for cellulosic fibers?

Микшина П.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук, Казань, Республика Татарстан, Россия
p.mikshina@gmail.com

Известно, что растения способны совершать самые разнообразные, зачастую очень сложные движения. Эти «неподвижные» организмы способны возвращать побег в вертикальное положение, если оно было нарушено; заглублять побеги для сохранения почек и молодых вегетативных органов; прикрепляться к различным поверхностям и т.д. Большинство этих движений у растений, несмотря на отсутствие мышечной системы, осуществляются благодаря работе своеобразных мускулов.

Уникальные физические возможности растительного организма были наглядно продемонстрированы еще в 1968 году на примере воздушных корней фикуса, поднимающих при укоренении достаточно тяжелые сосуды с землей. Генерацию контрактильных свойств у растений уже тогда связывали с наличием особых клеток (волокон), формирующих особый тип клеточной стенки, называемый желатинозным. Особенности такой клеточной стенки состоят в том, что в ней нет ксилана и практически нет лигнина, доля целлюлозы, микрофибриллы которой расположены вдоль оси клетки и формируют кристаллиты значительных размеров, составляет 85-90%, что позволяет называть такие волокна целлюлозными. Толщина такой клеточной стенки достигает 10-15 мкм. В ее составе обнаружен особый матриксный полисахарид – рамногалактуронан I, присущий, главным образом, первичным клеточным стенкам. Аналогия между мускулами и волокнами, формирующими желатинозный тип клеточной стенки, была проведена, когда для последних были выявлены контрактильные свойства.

Механизм возникновения контрактильных свойств в целлюлозных волокнах базируется на двух ключевых «игроках»: 1) микрофибриллах целлюлозы, высокое содержание и особенности расположения которых предоставляют возможность для латерального взаимодействия друг с другом, и 2) рамногалактуронане I с особыми свойствами, заключающимися в способности сохранять гидродинамический объем при уменьшении молекулярной массы. Эти свойства рамногалактуронана I обеспечиваются особенностями его пространственной организации. Рамногалактуронан I клеточной стенки волокон способен к самоассоциации, в результате которой заряженный остов полисахарида, построенный из чередующихся димеров [4)-α-D-Gal*p*A-(1 2)-α-L-Rha*p*(1], расположен на поверхности, а нейтральные галактановые цепи, взаимодействуя друг с другом, формируют ядро и удерживают составляющие ассоциат молекулы. В желатинозных слоях клеточной стенки ассоциаты такого типа оказываются «запечатанными» между латерально взаимодействующими микрофибриллами целлюлозы. Это служит причиной эффективного натяжения микрофибрилл и, как следствие, возникновения характерных для волокон контрактильных свойств. Такая картина сформирована при исследовании флоэмных волокон льна, однако есть основания предполагать аналогичную ситуацию и в других волокнах с желатинозной клеточной стенкой, в частности, в древесине натяжения, где в желатинозном слое также был обнаружен рамногалактуронан I сходной структуры.

В докладе будут детально разобраны основы «устройства» рамногалактуронана I, как ключевого агента, принимающего участие в формировании контрактильности растительных волокон, охарактеризованы этапы модификации надмолекулярной структуры клеточной стенки желатинозного типа, в том числе сопряженные с процессом создания натяжения микрофибрилл целлюлозы, и представлена общая картина функционирования растительных мускулов.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ (проекты № 15-04-02560 и № 14-04-31462).

ГЕРМАНИЙОРГАНИЧЕСКОЕ СОЕДИНЕНИЕ ПОВЫШАЕТ УСТОЙЧИВОСТЬ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА К НЕДОСТАТОЧНОМУ УВЛАЖНЕНИЮ И УМЕРЕННОМУ ОХЛАЖДЕНИЮ

Organogermanium compounds increase the resistance of pea seedlings to insufficient watering and moderate cooling

Миль Е.М[1] , Жигачева И.В[1]., Бинюков В.И[1]., Генерозова И.П[2]., Шугаев А.Г.[2]

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимической физики им. Н .М. Эмануэля Российской академии наук, Москва, Россия; zhigacheva@mail.ru

2Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К . А. Тимирязева РАН, Москва, Россия; igenerozova @mail.ru

Последние десятилетия ознаменовались крупными достижениями в синтезе и изучении новых классов элементоорганических соединений на основе кремния и германия. Особый интерес среди них представляют соединения с атрановой структурой. Внутрикомплексные трициклические кремниевые и германиевые эфиры триэтаноламина с общей формулой $XM(OCH_2CH_2)_3N$, где M= Si, Ge являются перспективными соединениями для использования их в качестве регуляторов роста растений. В отличие от силатранов, которые нашли широкое применение в медицине и сельском хозяйстве, герматранам, впервые синтезированным в 1965 году академиком М.Г. Воронковым, уделено значительно меньше внимания. Тем не менее, они обладают уникальными свойствами и структурой, а также специфической биологической активностью. На основании обнаруженного широкого спектра благотворного действия многих соединений германия на разнообразные живые организмы при малой их токсичности, германий был отнесен к необходимым биомикроэлементам. Высказано предположение, что существует определенная связь между содержанием германия в растениях и их полезными фармакологическими свойствами.

Среди германийорганических соединений найдены вещества, повышающие устойчивость растений к изменяющимся условиям внешней среды. Так обработка растений 1-герматранолом увеличивает содержание нуклеиновых кислот и внутриклеточного белка, а также повышает активность ферментов-антиоксидантов. Кроме того, этот препарат проявляет антистрессовые свойства, повышая устойчивость растений к температурным стрессам.

В нашей работе исследовали совместное влияние дефицита влаги, умеренного охлаждения до 14°С, и обработки семян гороха *(Pisum sativum L.),* сорт Флора-2 1-(герматран-1-ил)оксикарбонил-1-аминоэтаном (герматран) ($N(CH_2CH2O)3Ge(OCH_2CH2)NH2$ на АСМ имиджи изолированных митохондрий 6 дневных этиолированных проростков. Кроме того изучали влияние различных концентраций препарата на биоэнергетические характеристики митохондрий этих проростков.

Показано, что введение 10^{-5}- 10^{-11} М препарата в среду инкубации митохондрий приводило к росту эффективности окислительного фосфорилирования на 26% (10^{-11}М) и 42% (10^{-5}М). При этом происходило увеличение максимальных скоростей окисления НАД-зависимых субстратов с 31,0±1,3 до 36,9±2,6 (10^{-5}М) и 44,3±2,1 (10^{-1} М) нг. моль O_2/мг белка · мин.

Используя модельную систему «старения» митохондрий выявили, что препарат в этих же концентрациях снижал интенсивность ПОЛ в мембранах митохондрий почти до контрольных значений. Наиболее эффективен был препарат в концентрации 10^{-5}М. В связи с этим проверку протекторных свойств препарата проводили, используя в 10^{-5}М раствор герматрана.

В качестве объектов исследования использовали митохондрии, выделенные из 6 дневных этиолированных проростков гороха, подвергшихся недостаточному увлажнению в сочетании с умеренным охлаждением. Методом атомно-силовой микроскопии (АСМ) обнаружено, что недостаточное увлажнение и умеренное охлаждение приводило к изменению морфологии митохондрий: появлялись митохондрии большего объема (Vср. =115,1(мкм) · нм) по сравнению с контрольной группой проростков (Vср. = 80,7(мкм) · нм), что, вероятно, свидетельствовало о набухании органелл. Обработка семян 10^{-5}М герматраном предотвращала набухание митохондрий. Размеры митохондрий приближались к контролю и были даже несколько ниже этих значений (Vср. = 59,4 (мкм)2 · нм). Делается предположение, что защитный эффект исследуемого герматрана обусловлен его антиоксидантными свойствами.

СТИМУЛИРОВАНИЕ ВСХОЖЕСТИ СЕМЯН *CUCUMIS SATIVUS* ДЕЙСТВИЕМ ПЛАЗМЫ РАЗРЯДОВ АТМОСФЕРНОГО ДАВЛЕНИЯ

Promoting *Cucumis sativus* seed germination by the action of discharge atmospheric pressure

Минич А.С.[1], Минич И.Б.[1], Домашевская И.Г.[1], Гизбрехт С.В.[1], Кудряшов С.В.[2]

[1] *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Томский государственный педагогический университет, Томск, Россия; minich@tspu.edu.ru*

[2] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химии нефти Сибирского отделения Российской академии наук, Томск, Россия; ks@ipc.tsc.ru*

Стимуляция всхожести семян является одним из методов интенсификации роста и развития растений. Физические методы обработки семян растений (такие как ионизирующее излучение, электромагнитное поле, микроволновое облучение и холодная плазма при атмосферном давлении) являются одновременно эффективными и безвредными в отличие от химических методов. Однако физические методы имеют ряд ограничений. Плазменная технология, которая представляет уникальные характеристики и широко используется в модификации поверхности биоматериалов, также была изучена для ее применения в улучшение всхожести и изменении скорости прорастания семян. Результаты опубликованных исследований показывают, что обработка семян плазмой перед посевом может интенсифицировать жизнедеятельность семян, включая раннее прорастание, более высокую всхожесть, быстрый рост и активность ферментов.

Однако эффект стимулирования зависит от техники генерирования плазмы, источника газа плазмы и особенности семян конкретных видов растений.

Цель работы: изучение возможности стимулирования всхожести семян *Cucumis sativus* действием плазмы разрядов атмосферного давления.

Объектом исследования служил гибрид F_1 *Cucumis sativus* L. ‘Кураж’. Контролем служили необработанные семена. Семена опытных растений обрабатывали в течение 10, 30 или 60 секунд плазмой разрядов атмосферного давления. Для этого использовали плазмохимический реактор с планарным расположением электродов и одним диэлектрическим барьером из стеклотекстолита толщиной 2 мм. Площадь высоковольтного электрода составила 48 $см^2$ (16×3см). Величина разрядного промежутка 2 мм. Амплитуда высоковольтных импульсов напряжения – 8 кВ, частота повторения – 2 кГц.

Контрольные и опытные семена растений проращивали *in vitro* в чашках Петри на фильтровальной бумаге, смоченной 15 мл дистиллированной воды, под лампами ДНАЗ-150 (Россия) с интенсивностью светового потока 120 $Вт/м^2$ при температуре воздуха 22°С.

Оценку достоверности результатов исследований проводили с помощью программы «Excel» при 95%-ом уровнем надежности (уровень значимости – 0,05) из данных трех независимых экспериментов, каждый из которых проведен в трех биологических повторностях на 50 семенах растений.

У контрольных и всех опытных растений отметили одновременное появление корня (на следующие сутки), прорастание семян и появление семядолей (на 3-и сут). Однако энергия прорастания опытных семян была достоверно больше на 10% относительно контроля во всех вариантах исследований.

Достоверных изменений в росте корня у проростков, развившихся из смен обработанных плазмой в течение 10 секунд, не установили. У проросших семян, обработанных плазмой в течение 30 и 60 секунд, выявили относительно контроля достоверное увеличение длины корня на 42 и 19 % соответственно.

Единичное появление семядольных листьев, как у опытных, так и контрольных проростков наблюдали на 8 сутки онтогенеза, массовое – на 10 сут, окончательное – на 12 сут. Однако выход семядолей составил 50% у контрольных растений (половина проростков погибли), а в опыте от 80% (у проростков из семян, обработанных плазмой в течение 30 и 60 секунд) до 100% (у проростков из семян, обработанных плазмой в течение 10 секунд). При этом площадь семядольных листьев у проростов, обработанных плазмой в течение 10, 30 и 60 секунд, были достоверно больше контрольных на 8, 15 и 11%, соответственно.

Таким образом, предпосевная обработка семян *Cucumis sativus* гибрида Кураж плазмой разрядов атмосферного давления способствует стимулированию энергии прорастания семян, приводит к интенсификации роста корня, семядольных листьев и жизнеспособности проростков.

ИЗМЕНЕНИЕ ИНТЕНСИВНОСТИ ФОТОСИНТЕЗА И ТРАНСПИРАЦИИ ГИБРИДОВ *CUCUMIS SATIVUS* ПОД ФОТОСЕЛЕКТИВНЫМИ ПЛЕНКАМИ С ТЕРМИЧЕСКИМИ СВОЙСТВАМИ

Change in the photosynthetic and transpiration rates in HYBRIDS OF *CUCUMIS SATIVUS* under photoselective films with thermal properties

Минич А.С.[1], Минич И.Б.[1], Чурсина Н.Л.[1], Буценко Е.С.[1], Иваницкий А.Е.[1], Гизбрехт С.В.[1], Бендер О.Г.[2]

[1] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Томский государственный педагогический университет, Томск, Россия; minich@tspu.edu.ru

[2] Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт мониторинга климатических и экологических систем Сибирского отделения Российской академии наук, Томск, Россия; obender65@mail.ru

Фотоселективные полиэтиленовые пленки с термическими свойствами непрозрачные в области ИК излучения (термические пленки) нашли применение в сельском хозяйстве. Их преимуществом является создание благоприятного микроклимата в теплицах за счет регулирования тепла и светового потока. Это способствует интенсификации вегетативного развития растений, получению более ранних и высоких урожаев. Сотрудниками института сильноточной электроники СО РАН (Томск, Россия) разработаны две новые по составу термические полиэтиленовые пленки. Пленки получают нанесением на их поверхность слоев металлов субнаномикронной толщины на основе меди (TF1) и серебра (TF2) методом магнетронного распыления. Цель работы: изучение интенсивности фотосинтеза и интенсивности транспирации *Cucumis sativus* в защищенном грунте под термическими пленками TF1 и TF2.

Объектом исследования служили гибриды F_1 *Cucumis sativus* L. ‘Маринда’ и ‘Кураж’. Контролем служила теплица, укрытая светостабилизированной полиэтиленовой пленкой толщиной 120 мкм. Экспериментальные теплицы были укрыты пленками TF1 и TF2, полученными нанесением частиц соединений металлов на контрольную пленку.

Измерения интенсивности фотосинтеза и транспирации листовой поверхностью растений, устьичной проводимости, концентрации углекислого газа в межклетниках проводили на портативном инфракрасном газоанализаторе модель Li-6400, LI-COR (Inc., Lincoln, NE, USA) с открытой системой. Мезофильную проводимость рассчитывали как отношение интенсивности фотосинтеза к концентрации углекислого газа в межклетниках, а эффективность использования воды (WUE) – как отношение фотосинтеза к транспирации.

Под пленкой TF1 отметили активацию роста и развития побегов растений и увеличение урожайности гибридов Маринда на 13,6%, Кураж – 35,7% по сравнению с контролем. Под пленкой TF2 в начале вегетации наблюдали интенсификацию, а в момент начала плодоношения – к ингибированию ростовых процессов растений. Это привело к снижению урожайности гибрида Маринда на 26,2%, гибрида Кураж – на 7,7%. Такой результат сопряжен с изменениями интенсивности фотосинтеза и транспирации растений под пленками вследствие различия их фотофизических свойств.

Активация ростовых процессов обоих гибридов под пленками TF1 и TF2 относительно контроля до начала цветения растений связана с увеличением интенсивности фотосинтеза и транспирации. С начала плодоношения у обоих гибридов под пленкой TF1 интенсивность фотосинтеза превышала, а интенсивность транспирации не имела достоверных отличий по сравнению с контролем. Под пленкой TF2 интенсивность транспирации также достоверно не отличалась от контроля, а интенсивность фотосинтеза была ниже. Такой результат связан с соотношением УФ, ИК и ФАР в световом потоке в теплицах под исследуемыми пленками и коррелировал с температурой воздуха (r^2=0,73-0,94). Под пленкой TF1 вследствие ее низкой проницаемости для УФ радиации у растений определили самую низкую устьичную проводимость, т.е. устьица препятствовали диффузии CO_2 к центрам карбоксилирования хлоропластов. Концентрация CO_2 в межклетниках у огурцов под пленкой TF1 была самой низкой, что указывает на высокую активность центров карбоксилирования. Под пленкой TF2 уменьшение интенсивности фотосинтеза связано с повышенной температурой воздуха вследствие низкой проницаемости последней в ИК области. Установили сходную динамику мезофильной и устьичной проводимости. В процессе роста у растений увеличивалась устьичная проводимость, достигая максимума в момент начала плодоношения и превышая начальные значения в 6-8 раз, а затем уменьшалась. В процессе роста темпы увеличения мезофильной проводимости были ниже, чем устьичной и не превышали 1,5-1,8 раза. У обоих гибридов мезофильная проводимость была выше под пленкой TF1, что связано с более быстрым старением растений. Под пленкой TF2 у обоих гибридов проводимость мезофилла была ниже, чем в контроле и под пленкой TF1. WUE в листьях растений, выращенных под пленками TF1 и TF2, имела максимальные значения в момент перехода в репродуктивную фазу. Снижение WUE в дальнейшем связано с значительным увеличением устьичной проводимости и транспирации.

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ПЫЛЬЦЕВЫХ ЗЕРЕН У ТРЕХ ВИДОВ РОДОДЕНДРОНОВ

Features of pollen grain development in three rhododendron species

Миргородская О.Е., Котеева Н.К.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия; mirgolga@yandex.ru, O.Mirgorodskaya@bin.ran.ru

Проведен сравнительный анализ развития мужского гаметофита у некоторых видов рододендронов: листопадного *Rhododendron luteum*, полу-листопадного *Rhododendron ledebourii* и зимне-зеленого *Rhododendron catawbiense* на световом и электронно-микроскопическом уровнях для определения стадии развития пыльцы в период зимнего покоя. Заложение генеративных почек в Северо-Западном регионе начинается в июне у *R. ledebourii* и в июле у *R. luteum* и *R. catawbiense*. Сроки цветения этих видов также различаются на 1 месяц: *R. ledebourii* цветет в конце апреля, *R. luteum* и *R. catawbiense* цветут в конце мая – начале июня.

Результаты показали, что у исследованных видов рододендронов период формирования пыльцевых зерен занимает приблизительно 11 месяцев и включает шесть стадий: I — спорогенная ткань, II — мейоз и тетрады микроспор, III — ранняя вакуолизация, IV — поздняя вакуолизация, V — двуклеточные пыльцевые зерена, VI — зрелые пыльцевые зерена. Эти стадии характерны для большинства изученных видов растений независимо от происхождения, распространения и фенологических характеристик. У многолетних растений умеренного климата подробно изучены стадии микроспорогенеза и формирования пыльцевых зерен, но мало информации о временных рамках каждой стадии и сведений о том, какая из них приходится на период зимнего покоя. Стадия развития мужского гаметофита, на которой зимует растение, варьирует от вида к виду.

Микроспоры *R. luteum* и *R. catawbiense* мейотически делятся в конце августа и проводят зиму на стадии вакуолизации. Митоз с формированием двуклеточных пыльцевых зерен происходит за две недели до цветения в середине мая. У *R. ledebourii* закладываются два типа цветков: первый тип характеризуется ранним мейозом микроспор и формированием пыльцевых зерен в конце августа. Эти цветки распускаются с августа по ноябрь во время теплых осенних температур и содержат жизнеспособные пыльцевые зерна. Микроспоры второго типа цветков имеют более длительную стадию вакуолизации и образуют двуклеточные пыльцевые зерна к ноябрю. Т.о., к периоду пониженных температур мужской гаметофит *R. ledebourii* находится на более продвинутой стадии микроспорогенеза, чем *R. catawbiense* и *R. luteum*.

Различия в стадиях формирования пыльцевых зерен в зимний период, вероятно, связаны со сроками цветения этих видов, а не с наличием листьев в зимний период. Таким образом, растения умеренного климата имеют разные адаптивные стратегии микроспорогенеза. При этом очевидно, что температурозавимая и/или температурочувствительная стадии у них различаются.

РЕГУЛЯЦИЯ КРАСНЫМ СВЕТОМ ОТВЕТА НА ХОЛОДОВОЙ СТРЕСС У ЦИАНОБАКТЕРИИ *SYNECHOCYSTIS* SP.

Red light regulates cold shock response in Cyanobacterium *Synechocystis* sp.

Миронов К.С., Лось Д.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; ifr@ippras.ru

Эффект накопления полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) липидов мембран в клетках микроорганизмов в ответ на снижение температуры окружающей среды носит адаптивный характер. В соответствии с теорией гомеофазной адаптации, снижение температуры приводит к повышению вязкости клеточных мембран. Т.о., клетки синтезируют ПНЖК для снижения температуры фазового перехода мембранных липидов, что необходимо для поддержания физиологического состояния биологических мембран. Нами был получен мутант цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803 (далее *Synechocystis*) по генам *desA* и *desD,* кодирующим, соответственно, дельта-12 и дельта-6 десатуразы жирных кислот (ЖК). Данный мутант характеризуется абсолютной неспособностью синтезировать ПНЖК и представляет интерес для изучения роли ПНЖК при адаптации клеток цианобактерий к холодовому стрессу.

Клетки дикого типа (ДТ), приспосабливаясь к холодовому стрессу, накапливают 18:3 и 18:4 омега-3 ПНЖК. Мы обнаружили, что это накопление носит строго светозависимый характер. При этом регуляция экспрессии генов холодового ответа, в частности, гена омега-3 десатуразы, *desB*, также светозависима.

Нами также было проведено исследование спектрального состава света, который необходим для формирования ответа на холодовой стресс клетками *Synechocystis*. Для этого мы исследовали индукцию накопления транскриптов генов холодового ответа (*desB, ndhD2, hliB, sigD* и др.) при облучении светом различных длин волн: от 415 до 700 нм. Для этого мы использовали набор интерференционных светофильтров с максимумами пропускания 415, 466, 512, 578, 619, 700 нм – и шириной полосы полупропускания ~10 нм. При этом интенсивность света всегда была равна 50 мкЕ·м$^{-2}$·с$^{-1}$. Оказалось, что для светозависимой индукции экспрессии генов холодового ответа важен 700-нм свет.

Ген *desB* кодирует омега-3 десатуразу, отвечающую за синтез 18:3 и 18:4 ПНЖК. Мы исследовали ЖК-состав липидов мембран *Synechocystis* в условиях холодового стресса. При этом клетки освещали светом различных спектральных характеристик. Оказалось, что для индуцированного воздействием пониженных температур синтеза омега-3 ПНЖК также необходим красный 700-нм свет.

Мы связываем светозависимость адаптивного характера ответа на холодовой стресс с функционированием упомянутой Hik33 в частности с наличием PAS-домена у этой гистидин-киназы. Кроме того, нельзя исключать возможность регуляции ответа на холодовой стресс со стороны цианобактерильного фитохрома, максимум дальнекрасной формы которого – 704 нм. При этом 700-нм свет должен обеспечивать фотоконверсию фитохрома в красную форму, которая у цианобактерий считается не активной. Если предположение о вовлеченности фитихрома верно, то фитохром, возможно, выступает в качестве негативного регулятора экспрессии генов холодового стресса.

СИСТЕМА РАЗМНОЖЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ РОДА *CAMPANULA* L. (СЕМ. CAMPANULACEAE)

Reproduction system of some species of genus *Campanula* L. (Campanulaceae)

Мирошниченко Н.Н., Шевченко С.В.

Государственное бюджетное учреждение «Никитский ботанический сад – Национальный научный центр», Ялта, Крым, Россия; Shevchenko_nbs@mail.ru

Система размножения является одним из приоритетных направлений биологической науки, знание которой необходимо для решения спорных вопросов систематики и филогении, а также для разработки приемов сохранения фиторазнообразия. Флора Крыма включает около 3000 видов сосудистых растений, в том числе 22 вида сем. Campanulaceae. В составе сем. Campanulaceae флоры Крыма 17 видов. Изучаемые нами виды произрастают в горном Крыму на опушках леса и полянах (*Campanula sibirica* L. и *Campanula taurica* Juz.) и на сухих каменистых склонах (*Campanula talievii* Juz.). *C. sibirica* – двулетнее растение до 70 см высотой с одинарным прямостоячим стеблем. *C. taurica* – многолетнее растение до 50 см высотой с многочисленными стеблями, средний из которых прямой. *C. talievii* – многолетнее растение до 25 см высотой, также с многочисленными стеблями. Цветение изучаемых нами видов довольно продолжительное и длится с мая по август, включительно, при температуре от 20 до 30°С. Благодаря длительному цветению на одном растении можно наблюдать бутоны, цветки и плоды одновременно. Цветки многочисленные, раскрываются постепенно в течение 7-10 сут. Так, у *C. sibirica* образуется до 35 цветков на одном растении, у *C. taurica* до 45 цветков, а у *C. talievii* до 70 цветков. Цветок полный, обоеполый, актиноморфный, на довольно длинной цветоножке (8-10 мм). Цветоложе выпуклое, чашелистики отогнуты. Чашечка зубчатая, увядающая, неопадающая, с отогнутыми придатками. Лепестки зубчатые. Венчик колокольчатый, опушенный. Окраска цветков варьирует от светло-сиреневой до темно-фиолетовой. После увядания цветок не опадает. Андроцей представлен 5-ю прямыми и равными, прикрепленными к основанию нектарного диска, тычинками. Гинецей однопестичный, синкарпный. Также имеется внутрицветковый нектарник (в виде лимонного цвета диска над завязью). Столбик центральный, прямой, прямостоячий, увядающий, неопадающий, покрыт множеством одноклеточных волосков эпидермального происхождения. Рыльце верхушечное, расчлененное, 3-лопастное, отвернутое, в раскрытом цветке выходит за его пределы. Завязь нижняя, трехгнездная, опушенная, с большим количеством семязачатков. Пыльник 4-гнездный, 2-тековый. Эндотеций может быть двурядным, фиброзные утолщения образуются как на стенках эндотеция с внешней стороны микроспорангия, так и на стенках клеток паренхимы со стороны связника. В результате этого каждое гнездо оказывается окруженным фиброзным слоем. Зрелые пыльцевые зерна 3-клеточные, 3-бороздно-поровые, наряду с морфологически нормальными встречаются дефективные. Семязачаток анатропный, медионуцеллятный, унитегмальный. Интегумент эпидермального происхождения, представлен 6-8 рядами клеток. Микропиле простое, узкое, прямое. Фуникулус короткий, имеется фуникулярный обтуратор. Образуется рафе. Интегументальный тапетум сильно развит, достигает уровня яйцевого аппарата и представлен таблитчатыми клетками с ядрами и ядрышками. Археспориальная клетка дифференцируется в субэпидермальном слое и после ее первого деления отделяются париетальная клетка и спорогенная, которая трансформируется в мегаспороцит. В результате мейоза образуется тетрада мегаспор, из которых халазальная развивается в зародышевый мешок. Зародышевый мешок 7-клеточный, моноспорический, Polygonum – типа. Зародыш развивается по Solanad-типу. Зрелый зародыш прямой, дифференцированный, с двумя семядолями. Практические все цветки завязывают плоды, но в каждом разное количество семян. Плод – трехгнездная, многосемянная, поникающая коробочка, покрытая жесткими волосками. Коробочка на довольно длинной плодоножке. На одном растении формируется у *C. sibirica* до 4000 штук семян, у *C. taurica* –до 11000 штук семян, у *C. talievii* – до 13500 штук семян. Созревание семян и диссеминация длятся с августа по сентябрь. Высыпание семян происходит через поры, прикрытые крышечками, расположенные вверху коробочки, при незначительном движении побегов. Жесткие волоски, покрывающие коробочку, также можно считать дополнительным приспособлением для диссеминации (после засыхания цветка они превращаются в крючки). В большинстве случаев семена опадают недалеко от материнского растения, но благодаря их маленькому размеру (до 1мм) и легкости, а также с помощью ветра и пробегающих мимо животных, к которым прикрепляются плоды, семена разносятся на значительные расстояния, что является показателем успешного расселения и колонизации видами новых территорий. Семенное размножение является основным. Так, всхожесть семян у *C. sibirica C. taurica* составила более 50%, у *C. taurica* более 60 %, а у *C. talievii* 65%. У *C. taurica* и у *C. talievii* помимо семенного, также возможно вегетативное размножение, в то время как у *C. sibirica* нами такой функции не обнаружено. Весной развиваются новые розетки листьев, на следующий год появляются генеративные побеги, чем увеличивается репродуктивный успех данных видов. Количество новых розеток варьирует от 2 до 4-х. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о надежной системе размножения у изученных видов, их потенциальной возможности к естественному возобновлению и размножению в условиях природного ареала в Крыму.

КЛЕТОЧНАЯ СЕЛЕКЦИЯ КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ НА УСТОЙЧИВОСТЬ К ТЯЖЕЛЫМ МЕТАЛЛАМ

Cellular selection of cultivated plants on enhanced tolerance to heavy metals

Михайлова И. Д., Лукаткин А. С.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева», Саранск, Республика Мордовия, Россия; kariglazayi@yandex.ru

Важным направлением современной физиологии растений является изучение ответных реакций культивируемых *in vitro* клеток и тканей растений на абиотические факторы внешней среды, что необходимо для создания новых устойчивых форм растений. Каллусная культура являются удобным объектом для изучения повреждающего действия неблагоприятных факторов. Ее использование имеет ряд преимуществ: культура является однородным материалом, в котором исключены надклеточные системы регуляции; в культуре *in vitro* достаточно легко изучать некоторые параметры физиологии клетки; в культуре *in vitro* можно осуществлять клеточную селекцию на резистентность и/или толерантность к неблагоприятным факторам среды, и т.п. При этом необходимо отметить, что создание стрессовых селективных условий *in vitro*, идентичных таковым в природе, крайне затруднительно.

Работы по клеточной селекции на устойчивость растений к ионным стрессам (в частности, к тяжелым металлам – ТМ) начаты недавно, но уже имеются положительные результаты. Во всех экспериментах использовали метод прямой селекции, при котором в качестве селективного агента применяли токсические концентрации солей тяжелых металлов. Поскольку невозможно детально повторить условия, типичные для того или иного участка, в работах обычно использовали дозы ТМ, которые определяются преобладающими характеристиками почв на определенной территории (иначе говоря, использовали модельные концентрации ТМ, которые соотносимы с представленными в естественных почвах). Таким образом были получены растения газонной травы полевицы побегоносной, устойчивые к кадмию, меди и цинку. Однако мало работ, в которых анализируется возможность клеточной селекции на устойчивость к ТМ для культурных растений. Использование прямой схемы селекции и непродолжительного периода культивирование позволило получить растения-регенеранты хризантемы килеватой и льна декоративного, толерантные к действию ионов меди. Путем прямой селекции *in vitro* отобраны клеточные линии петунии, устойчивые к ртути, сорго – к алюминию, моркови – к алюминию и марганцу одновременно; суспензионные культуры дурмана – к кадмию.

Цель работы: изучить влияние различных концентраций (10^{-3},10^{-4}, 10^{-5} М/л) ионов ТМ (Cu^{2+}, Zn^{2+}, Ni^{2+}, Pb^{2+}) на каллусные культуры и пробирочные растения огурца (*Cucumis sativus* L., сорт Единство) и редиса (*Raphanus sativus* L., сорт Красный великан),

Из поверхностно стерилизованных семян получали стерильные растения, затем из них вычленяли эксплантаты, на которых после посадки на питательную среду Мурасиге-Скуга (МС) формировалась каллусная ткань. 5-недельные каллусы, полученные на разных эксплантах, и 7-дневные стерильные растения пересаживали на среды МС с добавлением различных концентраций (от 10^{-5} до 10^{-3} М/л) $CuSO_4 \times 5H_2O$, $NiSO_4 \times 7H_2O$, $Pb(NO_3)_2$, $ZnSO_4 \times 7H_2O$. Изучали влияние ТМ на рост и каллусогенез у огурца и редиса.

Показано, что ТМ в низких концентрациях (возможно, выступая в качестве необходимых эссенциальных элементов) стимулировали каллусогенез и рост каллусов, тогда как в высоких сильно угнетали эти процессы. По действию ТМ на каллусогенез и рост каллусов их можно расположить в следующем порядке, начиная с самого токсичного: для огурца – $Zn^{2+} > Cu^{2+} > Ni^{2+} > Pb^{2+}$; для редиса – $Cu^{2+} > Ni^{2+} > Pb^{2+} > Zn^{2+}$.

Обнаружена дифференциальная реакция каллусных тканей и пробирочных растений на действие ТМ, которую оценивали по физиологическим и биохимическим индексам, отражающим ответные реакции на окислительный стресс. Выявлены различия в реакциях растений и каллусных тканей на действие разных концентраций ТМ. Показана возможность повышения устойчивости к ионам ТМ в каллусных культурах огурца и редиса в ходе длительной пересадочной культуры *in vitro*.

Исследование выполнено в рамках выполнения конкурсного проекта Министерства образования и науки России (№ 6.783.2014К).

НАРУШЕНИЕ ПИТАТЕЛЬНОГО СТАТУСА СОСНОВЫХ ЛЕСОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ АНТРОПОГЕННЫХ ФАКТОРОВ

Disturbance of nutritional status of Scots pine forests under anthropogenic factors

Михайлова Т.А., Шергина О.В., Калугина О.В., Тараненко Е.Н., Трухан И.С.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия; mikh@sifibr.irk.ru

Цель работы – исследовать комплекс параметров древесных растений (сосны обыкновенной – основного продуцента), лесной подстилки, генетических почвенных горизонтов и по их изменению оценить степень нарушенности питательного статуса сосновых лесов Байкальского региона, подвергающихся воздействию негативных факторов, связанных с хозяйственной деятельностью. На обследованной территории к наиболее значимым антропогенным факторам, нарушающим состояние лесных экосистем, относятся техногенное загрязнение, несанкционированные рубки, пожары, возникающие по вине человека, высокая рекреационная нагрузка, плотная дорожная сеть, многочисленные свалки промышленного мусора.

Обследование сосновых лесов проводилось в южной части региона (в пределах Иркутской области), где сосредоточены крупные промышленные центры – Иркутский, Шелеховский, Ангарский, Усольский, Черемховский, выбросы которых характеризуются повышенной токсичностью вследствие присутствия в их составе оксидов серы, углерода, азота, а также фтористого водорода, аэрозолей тяжелых металлов, органических загрязнителей. Полевые исследования осуществлялись на пробных площадях (ПП), которые закладывались на территориях, прилегающих к промцентрам. При этом учитывали степень антропогенной нагрузки, специфику регионального ветрового режима и локальной циркуляции воздушных масс, особенности рельефа и гидросети. ПП закладывали в преобладающих в регионе подтаежных лесах, в которых доминируют сосняки разнотравные и осоково-разнотравные преимущественно III класса бонитета. Фоновые ПП находились на расстоянии 100-250 км от промцентров и не подпадали под основной перенос выбросов, а также не подвергались какому-либо антропогенному воздействию. Исследовали комплекс параметров, характеризующих нарушение питательного статуса лесов, в том числе изменение кислотно-щелочного баланса компонентов лесных экосистем; усиление миграции и возрастание аккумуляции элементов-поллютантов в почве и ассимиляционных органах древесных растений; нарушение соотношений биогенных элементов в почвенном поглощающем комплексе (ППК) и растительном организме; изменения рядов накопления элементов в хвое сосны, уровня ее обеспеченности основными биогенными элементами и степени их сбалансированности в ассимиляционных органах деревьев и ППК.

Показано, что различия по параметрам питательного статуса сосновых лесов на фоновых территориях в разных лесорастительных условиях меньшие в сравнении с его изменениями на участках с высоким уровнем антропогенных воздействий. При этом негативное влияние проявляется в изменении химического состава компонентов экосистемы, прежде всего древесных растений, как за счет фолиарного и почвенного поглощения тех элементов, которые входят в состав техногенных эмиссий, так и нарушения физико-химических и механических свойств почв. Доминирующую роль в негативном влиянии играет техногенное загрязнение, поскольку поступающие с выбросами элементы-поллютанты вмешиваются в процессы миграции биогенных элементов в фито- и педоценозе, их усвоения растительными организмами, перераспределения в лесной подстилке и горизонтах почвенного профиля. В наибольшей степени нарушения проявляются в ассимиляционных органах сосны, лесной подстилке и верхних почвенных горизонтах.

В ассимиляционных органах сосны аккумуляция элементов-поллютантов вызывает резкое нарушение соотношений биогенных элементов. На примере наиболее распространенных поллютантов (серы и свинца) показано, что их долевое участие в хвое значительно возрастает, что вызывает сильное уменьшение долей калия, магния, фосфора, марганца. Показано, что этот процесс во многом обусловлен аэральным поступлением поллютантов, однако он усиливается за счет нарушений состава ППК.

Возникающий экосистемный дисбаланс элементов-биогенов вызывает существенное ухудшение состояния насаждений, что проявляется в виде уменьшения целого ряда ростовых характеристик древесных растений. Об этом свидетельствуют выявленные обратные корреляции высокого уровня между содержанием в хвое элементов-загрязнителей и ростовыми параметрами деревьев – длиной и массой побегов, их охвоенностью, количеством ассимилирующей фитомассы, объемом ствола. В случае слабого техногенного загрязнения, но выраженного воздействия других факторов (например, высокой рекреационной нагрузки) проявляется сильная зависимость питательного статуса деревьев от физико-механических показателей верхних горизонтов почв (плотности, аэрации, пористости, влажности). Полученные результаты свидетельствуют о взаимообусловленных изменениях в фито- и педоценозе, что указывает на системный характер возникающих нарушений в лесных биогеоценозах.

Исследования выполнялись при финансовой поддержке РФФИ (проект № 14-44-04067).

РИСУЕМ КАРТИНУ ФОРМИРОВАНИЯ ТРЕТИЧНОЙ КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ РАСТЕНИЙ С ПОМОЩЬЮ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ

Picture of the formation of a tertiary plant cell wall painted by molecular genetic approaches

Мокшина Н.Е.[1], Горшков О.В.[1], Дейхолос М.К.[2], Горшкова Т.А.[1]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН, Казань, Россия; natalali@list.ru*

[2] *Department of Biological Sciences, University of Alberta, Edmonton, Alberta, Canada*

Формирование ключевой структуры растительной клетки – клеточной стенки – процесс, который до сих пор во многих аспектах остается под завесой тайны. Этот факт действительно удивляет, особенно на фоне столь стремительно развивающихся постгеномных технологий. Одной из причин сложившейся ситуации является то, что основу растительной клеточной стенки составляют полисахариды – полимеры, принципиально отличающиеся от белков и нуклеиновых кислот: 1) структура полисахаридов не кодируется непосредственно в геноме (их сборку осуществляют мембраносвязанные ферменты), 2) в углеводных молекулах мономеры могут быть соединены с участием различных атомов, что многократно увеличивает количество структур и, как следствие, усложняет исследование их синтеза, модификации и функциональной нагрузки.

После расшифровки ряда растительных геномов оказалось, что около 15% генов задействовано в формировании и функционировании клеточной стенки, при этом до сих пор среди известных генов практически отсутствуют гены ферментов, осуществляющих сборку полисахаридов, не выявлены механизмы формирования мультиферментных комплексов, не установлена роль многих вспомогательных белков. Удобной моделью для изучения формирования клеточной стенки являются растительные волокна, поскольку вследствие мощно развитой клеточной стенкой синтез и модификации основных компонентов значительно интенсифицированы. Волокна многих растений формируют желатинозные слои клеточной стенки, которые обогащены кристаллической целлюлозой. Этот тип клеточной стенки структурно и качественно отличается от других слов клеточной стенки – первичной и вторичной. Недавно осуществленное полное секвенирование генома льна позволяет приступить к системной характеристике генов, вовлеченных в синтез полимеров клеточной стенки флоэмных волокон желатинозного типа.

Нами проведена оценка дифференциальной экспрессии генов ключевых семейств белков, потенциально вовлеченных в формирование клеточной стенки флоэмных волокон льна: целлюлозосинтаз (CESAs), целлюлозосинтазоподобных (CSLs) и хитиназоподобных белков (CTLs). Впервые проведен скрининг последовательностей целлюлозосинтаз льна и их аннотирование. Показано, что при синтезе третичной клеточной стенки повышается экспрессия тех же изоформ генов целлюлозосинтаз, что и при синтезе вторичной (CESA4, 7, 8). Часть генов хитиназоподобных белков (LusCTLs), филогенетически близких друг другу, резко повышала свою экспрессию в волокнах, формирующих третичную клеточную стенку, в то время как содержание транскриптов иных хитиназоподобных белков (LusCTL1, LusCTL2) увеличивалось в ходе синтеза как вторичной, так и третичной клеточной стенки. Для последней группы генов продемонстрирована ко-экспрессия с целлюлозосинтазами, специфичными для синтеза вторичной клеточной стенки, что позволяет рассматривать эти хитиназоподобные белки в качестве кофакторов синтеза целлюлозы, хотя функции хитиназоподобных белков до сих пор не установлены. Что касается синтеза нецеллюлозных полисахаридов, входящих в состав третичной клеточной стенки, – ни один фермент, осуществляющий сборку матриксных полисахаридов, на сегодняшний день не идентифицирован. Среди генов целлюлозосинтазоподобных белков (LusCSLs), выявлен один ген, экспрессия которого наиболее резко возрастала в волокнах с клеточной стенкой желатинозного типа. Предположительно, этот ген может кодировать фермент синтеза матриксного полисахарида третичной клеточной стенки. Основным матриксным полисахаридом третичной клеточной стенки является рамногалактуронан I, который играет ключевую роль в формировании надмолекулярной структуры третичной клеточной стенки. Этот полисахарид подвергается активной постсинтетической модификации за счет действия эндогенных ферментов. Некоторые ферменты выявлены и охарактеризованы с помощью молекулярно-генетических подходов, функции ряда ферментов пока не выяснены. Таким образом, несмотря на то, что многих участников формирования третичной клеточной стенки мы уже «знаем в лицо», и уже сделали некоторые наброски, полностью нарисовать картину этого процесса нам еще предстоит.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке проекта РФФИ № 14-04-01778-а и гранта по гос. поддержке ведущих научных школ РФ НШ-1890.2014.4.

МЕТОДОЛОГИЯ СОХРАНЕНИЯ ЦЕННЫХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

The methodology for the conservation of valuable plant species *in vitro* culture

Молканова О.И., Васильева О.Г., Коновалова Л.Н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина Российской академии наук, Москва, Россия; molkanova@mail.ru

Сохранение биоразнообразия растений является одной из актуальных задач ботанических садов. В настоящее время использование культуры изолированных клеток и тканей для сохранения генофонда растений приобретает все большее значение.

Генетический банк растений *in vitro* ГБС РАН является самым представительным в России и содержит около 1200 наименований: 145 видов, 1057 культиваров и отборных форм из 57 семейств. Особое внимание уделяется редким и исчезающим видам, коллекция которых в условиях in vitro насчитывает 65 видов из 18 семейств. Наибольшим числом видов представлены семейства *Actinidiaceae, Asteraceae, Caprifoliaceae, Ericaceae, Liliaceae, Rosaceae.*

При формировании генетических банков ценных видов растений в качестве исходного материала предпочтительно использовать семена. В экспериментальной работе с семенами многих видов возникает такая проблема, как покой семян и его преодоление. Метод культивирования in vitro позволяет значительно сократить срок выведения семян из покоя. Критерием выбора сроков изоляции зародышей является достижение ими стадии относительной автономности.

При разработке и оптимизации методики клонального микроразмножения для каждого таксона необходимо определить стратегию исследования: выбрать модель размножения и тип экспланта, подобрать условия, способствующие реализации его морфогенетического потенциала. Правильный выбор модели размножения, состава питательных сред и условий культивирования позволяет свести к минимуму риск появления сомаклональных вариантов.

Одним из эффективных способов сохранения генофонда растений является культивирование регенерантов в условиях замедленного роста. Сроки и специфика условий хранения растительного материала определяются биологическими особенностями конкретных таксонов. Основная цель при создании медленно растущих коллекций – сохранение жизнеспособности и аутентичности. В процессе исследований показано, что совместное использование оптимальных показателей интенсивности освещения, состава питательной среды, концентрации осмотиков и ретардантов значительно увеличивало как период субкультивирования, так и жизнеспособность эксплантов в процессе хранения in vitro.

Оптимальными условиями сохранения для растений-регенерантов изученных семейств пониженная температура (3-7°С), слабая освещенность (1,2-2,5 мкМ $м^{-1}с^{-1}$) и ½ MS. Для видов семейств *Rosaceae* эффективно добавление 40 г/л сахарозы и 8 г/л маннита, в то время как для *Liliaceae* – 20 г/л сахарозы и 5-7 мг/л АБК.

Для растений разных жизненных форм на основе комплекса показателей (частота регенерации, органогенетический индекс, эффективность микроразмножения) определены оптимальные типы эксплантов для длительного сохранения в условиях in vitro. Для древесных и полудревесных растений - это фрагменты побегов, содержащие один-два метамера, для наземных трав - почки возобновления. Для луковичных растений, представителей семейств *Alliaceae, Amarilidaceae, Hyacinthaceae, Liliaceae*, - микролуковички или их сегменты, для представителей семейства *Orchidaceae* – протокормы.

Немаловажным условием поддержания коллекции in vitro является сохранение стабильности генотипа. В проведенных исследованиях показана возможность использования молекулярно-генетических методов для идентификациии и паспортизации коллекционных образцов и изучения аутентичности при хранении *in vitro*.

При создании банков *in vitro* необходимо использование методов генетического мониторинга природных популяций. Это позволит определить степень генетического разнообразия исследуемых таксонов, а также оптимизировать состав и количество образцов для репрезентативной выборки при сохранении in vitro.

Коллекционные образцы *in vitro* - базовая основа для широкого спектра научных исследований и обмена коллекционным материалом с отечественными и зарубежными научными и учебными учреждениями.

В дальнейшем на национальном и международном уровнях предполагается создание новых и укрепление существующих генетических банков растений *in vitro* и расширение на их основе исследований в области оценки, изучения и сохранения растительных ресурсов.

ВЛИЯНИЕ ФУЛЛЕРЕНОЛА НА ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР И ПРОРОСТКОВ РАСТЕНИЙ

Influence of the fullerenol on physiological and biochemical parameters of plant cell cultures and seedlings

Молчан О.В.[1], Казакевич А.В.[1], Запрудская Е.В.[2], Юрин В.М.[2]

[1] *Институт экспериментально ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси, Минск, Беларусь*
olga_molchan@mail.ru

[2] *Белорусский Государственный Университет, Минск, Беларусь*

Фуллерены, сферические углеродные наночастицы, находят применение в различных сферах деятельности человека, поскольку обладают качественно новыми физико-химическими свойствами. Основной проблемой, затрудняющей исследование и использование фуллеренов в биологии и медицине, является их гидрофобность. Для повышения растворимости в воде используют различные способы химической модификации фуллерена и получение полигидроксилированных форм – фуллеренолов. Однако, несмотря на успехи химического синтеза, биологическая активность этих соединений изучена явно недостаточно. При этом большая часть работ сфокусирована на исследованиях их терапевтической активности и цитотоксичности по отношению к клеткам животных и микроорганизмов. Изучению влияния фуллеренов и их производных на растительный организм посвящены лишь единичные публикации. Данные о влиянии фуллеренов на растительные организмы не только малочисленны, но и противоречивы. Показано, что они могут проникать в клетки растений, либо абсорбироваться на их поверхности, ускорять или замедлять прорастание семян, стимулировать или ингибировать рост. Поэтому крайне важно детально изучить их влияние на растительный организм. В связи с этим, целью данной работы было исследование влияния полигидроксилированного фуллерена на ростовые и биохимические параметры клеток проростков и культур *in vitro* ряда растений.

В качестве объектов исследований использовали клеточные культуры *Vinca minor* L., *Vinca major* L., *Catharanthus roseus* G. Don, а также проростки *Catharanthus roseus* G. Don и *Hordeum vulgare* L. Суспензионную культуру выращивали на модифицированной среде МС в темноте при 25°С на орбитальном шейкере при 120 об/мин. Каллусные клетки культивировали на свету или в темноте при 25°С на агаризованной среде МС. Определение энергии прорастания и всхожести семян ячменя *Hordeum vulgare* L. и *Catharanthus roseus* G. Don проводили согласно ГОСТ 12038-84. Для экспериментов использовали фуллеренол [$C_{60}(OH)_{24-26}$] производства НПК «Нео-ТекПродакт» (г. Санкт-Петербург) в широком диапазоне концентраций. Определение содержания растворимых полифенолов проводили с помощью реактива Фолина-Чокольтеу, флавоноидов – по реакции с хлоридом алюминия, антирадикальную активность - с использованием радикала DPPH, триптамина -спектрофлуориметрически методом Сангван с соавт.

В результате проведенных исследований было установлено, что фуллеренол стимулирует скорость прорастания семян ячменя и катарантуса розового, как в темноте, так и на свету. Причем в первые сутки прорастания более выраженным оказывается эффект высоких (более, чем 0,001%), а при оценке энергии прорастания на третьи сутки – низких концентраций фуллеренола. Прирост биомассы проростков фуллеренол может активировать преимущественно за счет поступления воды. Фуллеренол в концентрации менее, чем 0,001% не оказывал влияния на ростовые параметры исследованных каллусных и суспензионных клеток. Только более в более высоких концентрациях фуллеренол снижал удельную скорость и индекс роста культур. При этом было показано доз-зависимое и видоспецифичное влияние фуллеренола на содержание фенольных соединений, обладающих антирадикальной активностью, а также суммы флавоноидов. При культивировании в темноте и клеточных культур, и проростков увеличение содержания фуллеренола в среде приводило к стимуляции накопления фенольных соединений клетками. При этом обработка фуллереном в концентрации более чем 0,001% снижала содержание фенольных соединений. На свету влияние фуллеренола на содержание суммы фенольных соединений в исследуемых объектах было либо менее выраженным, либо отсутствовало. некоторых случаях наблюдали снижение содержания фенольных соединений под действием наночастиц. В клеточных культурах наблюдали рост суммы флавоноидов только под действием фуллеренола в концентрации 0,001% как в темноте, так и на свету. Антирадикальная активность полученных экстрактов, как правило, коррелировала с содержанием фенольных соединений. Стимулирующий и доз-зависимый эффект отмечен и при исследовании влияния фуллеренола на накопление триптамина, основного предшественника фармакологически ценных индольных алкалоидов растений рода *Vinca и Catharanthus.* Фуллерены и их производные известны как мощные, нетоксичные антиоксиданты, действующие, предотвращая накопление активных свободных радикалов и перекисное окисление липидов в клетках животных. Обнаруженные нами эффекты также свидетельствуют о воздействии фуллеренола на редокс-статус растительной клетки. При этом в растительных организмах антиоксидантная активность полигидроксилированного фуллерена может быть связана с влиянием на систему синтеза и накопления фенольных соединений и терпеновых индольных алкалоидов.

ГАЗООБМЕН CO_2 В ЗАБОЛОЧЕННОМ СОСНЯКЕ И В ВЕРХОВОМ КУСТАРНИЧКОВО-СФАГНОВОМ БОЛОТЕ В СУХОЙ ПЕРИОД

CO_2 gas exchange in swamp pine forest and in the high shrubrub-sphagnum bog in dry season

Молчанов А.Г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт лесоведения Российской академии наук, с. Успенское, Московская обл., Россия; a.georgievich@gmail.com

Как известно, газообмен CO_2 в заболоченном лесу и на сфагновом болоте играет значительную роль в регуляции содержания CO_2 в атмосфере. Однако, эта роль в разных условиях неоднозначна. Ранее мы показали каков газообмен CO_2 в заболоченном лесу и на болоте при высоком стоянии грунтовых вод. В настоящем исследовании будет рассмотрена зависимость газообмена CO_2 с поверхности естественно растущего сфагнума и охвоенного побега сосны и багульника от влажности верхнего слоя почвы, температуры воздуха и солнечной радиации в сухой период, когда уровень грунтовых вод опускается ниже 30 см. Изучение газообмена CO_2 проводилось на двух примыкающих участках неосушенного верхового болота в Талдомском районе Московской области: 1 - в сосняке кустарничково-сфагновом (сосняк) имеющего сомкнутый полог с пропусканием солнечной радиации 12%, и 2 - в верховом кустарничково-сфагновом болоте с редкой сосной (болото). Измерение эмиссии CO_2 с поверхности сфагнума проводили одновременно на обоих участках по открытой схеме (Edwards и Sollins, 1973) с помощью газоанализатора “LICOR- 820” и “LICOR- 840” (Li-Cor, США). Определение газообмена CO_2 с поверхности сфагнум проводилось во второй половине вегетационного периода: 22-23.07; 07-08.08; 03-04.09 и 03-04.10.2014 г. Влажность почвы определяли термовесовым методом. Интенсивность фотосинтеза (ИФ) сфагнума рассчитывали по разности данных газообмена CO_2 с поверхности подушки сфагнума в естественных условиях (вместе с почвой) в дневное время и данных газообмена с той же подушки сфагнума за ночной период. Считаем, что грубой ошибки не получили, так как ночное дыхание сфагнума незначительное по сравнению с дыханием почвы (торфа) и ночные величины газообмена в основном обусловлены дыханием почвы.

Дневной ход газообмена CO_2 с поверхности сфагнума вместе с почвой (NEE) показал, что эмиссия CO_2 на болоте колеблется около 4 мкмоль/(м^{2}с). В лесу эмиссия CO_2 в два раза выше, что обусловлено, вероятно, дыханием корней сосны. В дневное время при солнечной радиации свыше 200 Вт/м^2 наблюдается снижение эмиссии CO_2, которое происходит в результате фотосинтеза сфагнума. Световая кривая фотосинтеза показала, что на открытом участке болота газообмен CO_2 сфагнума колеблется около ноля при радиации до 200 Вт/м^2, тогда как в лесу, точка компенсации фотосинтеза наблюдается при радиации около 10 Вт/м^2. Выход на плато фотосинтеза на открытом месте происходит при радиации свыше 400 Вт/м^2, а в лесу при радиации 50 Вт/м^2. ИФ при световом насыщении у сфагнума в лесу составляет 2,5±0,5, а на открытом болоте – 1,6±0,2 мкмольCO_2/(м^{2}с). Газообмен багульника также значительно различается: если в лесу выход на плато фотосинтеза происходит при радиации 50 Вт/м^2, то на открытом болоте при радиации свыше 200 Вт/м^2. Кроме того, удельный поверхность листьев багульника значительно различается на болоте 64 см^2/г и в лесу, 32 см^2/г. ИФ багульника при световом насыщении была в лесу 8,5±0,5, а на открытом участке болота – 10,0±1,5 мкмольCO_2/(м^{2}с). Газообмен хвои сосны на болоте, когда уровень грунтовых вод находился глубже 30 см был практически такой же, как в суходольном сосняке. Так на исследуемом верховом кустарничково-сфагновом болоте с редкой сосной ИФ при световом насыщении у световой хвои была 10±0,5 мкмольCO_2/(м^{2}с). В Ярославской области в сосняке Iа бонитета ИФ при световом насыщении у световой хвои составляла 11 мкмоль CO_2/(м^{2}с) (Молчанов, 2015). Эти данные близки к данным полученным в Финляндии (Stenberg et al, 2001), 14 мкмольCO_2/(м^{2}с) у световой хвои и 8 мкмольCO_2/(м^{2}с) у теневой, в Карелии (Болондинский, Кайбияйнен, 2003) максимальная ИФ составляла около 12 мг CO_2 г$^{-1}$сух. хв. ч$^{-1}$ или 10,0. мкмольCO_2/(м^{2}с) (пересчет наш), в Швеции (green et al, 1980, Trong, Linder, 1982) было 25 мг CO_2 дм$^{-2}$ч$^{-1}$ или 15 мкмоль CO_2/(м^{2}с).

Таким образом, в сухой период, при уровне грунтовых вод ниже 30 см в заболоченном сосняке и в верховом болоте ИФ напочвенного покрова значительно различается. Различие фотосинтеза обусловлено в первую очередь световым режимом. Баланс CO_2 с поверхности сфагнума (сфагнум вместе с почвой) также различается, однако здесь различие обусловлено наличием корней сосны, дыхание которых вносит значительную долю. ИФ сосны на болоте при уровне грунтовых вод ниже 30 см одинакова с ИФ сосны на суходольных участках.

Работа выполнена при финансовой поддержке Проекта «Восстановление торфяных болот в России в целях предотвращения пожаров и смягчения изменений климата», финансируемого в рамках Международной климатической инициативы Федеральным министерством окружающей среды, охраны природы, строительства и безопасности ядерных реакторов Федеративной Республики Германия и управляемого через немецкий банк развития KfW (проект № 11 III 040 RUS K Восстановление торфяных болот) и проектов РФФИ № 14-04-01568-а и 14-05-00797-а.

ОСОБЕННОСТИ ПАРАМЕТРОВ ВОДООБМЕНА РАСТЕНИЙ ТОМАТА *LYCOPERSICON ESCULENTUM MILL.* ПРИ СМЕНЕ ПОСТОЯННОГО ОСВЕЩЕНИЯ НА ИМПУЛЬСНОЕ

Water exchange parameters in *Lycopersicon esculentum* Mill. under changing continuous lighting to impulse

Мороз Д.С.

ГНУ «Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь; diva14@yandex.ru

Импульсное освещение растений является перспективным методом, позволяющим снизить расходы электроэнергии на получение конечной продукции при выращивании растений в условиях с искусственным освещением. В данной работе представлены данные о влиянии смены постоянного освещения на импульсное на растения томата *Lycopersicon esculentum* Mill., гибрид «Жеронимо F1». Растения выращивали методом аггрегатопоники в отдельных боксах с идентичными условиями освещения исключительно светодиодными облучателями (отношение красного света к синему 2,3:1) при плотности потока фотонов (ППФ) 240 мкмоль/м^{2}с - вариант 1, и 160 мкмоль/(м^{2}с) - вариант 2. Далее в боксах был применен импульсный режим освещения (2 мкс темнота : 4 мкс свет). В результате ППФ для варианта 1 составила 160 мкмоль/(м^{2}с), а для варианта2 - ППФ 100 мкмоль/(м^{2}с). Для определения воздействия смены режима освещения на водообмен использовалась методика электронного мониторинга водного режима ассимиляционной ткани листа. Данная методика основана на измерении толщины и массы высечки из листьев при дегидратации и позволяет оценить скорость дегидратации ткани, время сохранения стабильного тургора, а также ряд показателей морфоструктуры и водного режима: толщину ткани, удельную поверхностную плотность листа(УППЛ), объем воды, контролируемой тургором, объем межклетников и другие.

Смена постоянного режима освещения на импульсный оказывает различное воздействие на структуру листа в зависимости от начальных условий выращивания растений. Для растений, выращиваемых при более высокой ППФ - вариант 1, смена режима на импульсный привела к незначительному снижению толщины листа с 310±87 до 278±66 мкм, и У ППЛ с 22±4 до 20±0 мкг/мм . Объем воды, контролируемой тургором, практически не изменился - 441±151 и 478±125 мкг/мм , соответственно. При этом, наблюдалось увеличение объема межклетников с 12,2 ±7,1 до 25,3±4,3% от общего объема. Такие изменения указывают на повышение чувствительности растений к условиям водного режима. У второй группы растений, выращиваемых изначально при низкой ППФ - вариант 2, смена режима освещения, напротив, приводит к некоторому увеличению толщины листа с 253±66 до 320±130 мкм. Учитывая, что УППЛ не изменилась и составляет 19±4 мкг/мм^2, а объем межклетников уменьшился с 19,8±7,5 до 4,4±2,0% от общего объема, можно говорить об увеличении способности листа удерживать воду. Это подтверждается и характером дегидратации ассимиляционной ткани листа. У растения варианта 1 снизилась способность мезофилла листа поддерживать стабильный тургор в условиях дегидратации ткани. Так у листьев второго яруса время сохранения постоянного тургора снизилось с 70 до 40 мин. Такое же снижение было выявлено как у более молодых (1-ый ярус) с 28 до 15 мин, так и у более зрелых (3-ий ярус) листьев с 69 до 45 мин. Увеличилась скорость дегидратации ассимиляционной ткани на участке стабильного тургора у листьев 1-го яруса с 0,127±0,008 до 0,142±0,024 мг/мин, у листьев 2-го 0,086±0,003 до 0,116±0,035 мг/мин, у листьев 3-го 0,104±0,004 до 0,161±0,033 мг/мин, что свидетельствует о снижении способности растений поддерживать водный гомеостаз. На участке от максимального тургора до начала циторриза различия в скорости дегидратации менее выражены. Листья первого яруса оказались более чувствительны и скорость на данном этапе дегидратации несколько возросла с 0,058±0,004 до 0,074±0,019 мг/мин. Для листьев второго и третьего яруса значимых отличий выявить не удалось и скорость дегидратации составляла 0,033±0,003 до 0,058±0,008 мг/мин, соответственно. Для растений варианта 2 смена постоянного освещения на импульсное, напротив, не вызвала резких изменений во времени сохранения стабильного тургора. Так, у листьев первого яруса этот показатель увеличился с 17 до 33 мин, а у второго - с 55 до 65 мин, а у листьев третьего яруса снизился с 63 до 58 мин. Это вполне согласуется с тем, что скорости дегидратации составили на участке стабильного тургора у листьев 1-го яруса 0,116±0,014 и 0,099±0,037 мг/мин, у листьев 2-го 0,119±0,040 и 0,075±0,011 мг/мин, у листьев 3-го 0,087±0,018 и 0,106±0,016 мг/мин при посточнном и импульсном режиме, соответственно. Скорость дегидратации на участке от максимального тургора до циторриза у листьев 1 -го яруса даже несколько снизилась с 0,062±0,006 и 0,042±0,014 мг/мин, а для листьев 2-го и 3-го яруса не изменилась и составила 0,031±0,009 до 0,036±0,012 мг/мин, соответственно.

Таким образом, растения, которые изначально выращивались при меньшей ППФ, обладают более высоким адаптивным потенциалом. В результате морфоструктура листьев этих растений изменилась таким образом, что при импульсном освещении они смогли увеличить способность поддерживать водный гомеостаз, что выражается в способности поддерживать постоянный тургор и снижении скоростей дегидратации. Растения же, выращиваемые в условиях более приближенных к оптимальным, оказались менее приспособлены к смене режима на импульсный и, соответственно, уменьшении интегральной ППФ. В итоге они испытывали стресс, что повлекло снижение водоудерживающей способности листьев.

АНАТОМО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЛИСТЬЕВ АСТРЫ СОЛОНЧАКОВОЙ *(ASTER TRIPOLIUM L.)* И МЛЕЧНИКА МОРСКОГО *(GLAUX MARITIMA* L.) В УСЛОВИЯХ ПРИЛИВНО-ОТЛИВНОЙ ЗОНЫ БЕЛОГО МОРЯ

Anatomical and morphological peculiarities of the leaves of *Aster tripolium* L. and *Glaux maritima* L. in the tidal conditions of the White Sea coast

Морозова К.В., Гуляева Е. Н.

Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия; mkv25@bk.ru, gln7408@gmail.com

Побережья морей характеризуются динамичностью и напряженностью многих экологических факторов. В силу этого растения приморских сообществ являются уникальным объектом для исследования адаптивных приспособлений к специфическим условиям прибрежно-морской полосы. Цель исследования - изучить анатомо-морфологические особенности листьев доминантных видов галофитов астры солончаковой и млечника морского, произрастающих в разных условиях приливно-отливной зоны на побережье Белого моря.

Исследование проводилось в 2011-2014 гг. на Поморском берегу Белого моря Беломорского района Карелии в дер. Растьнаволок (12 км от г. Беломорска). Объекты исследования - астра солончаковая *(Aster tripolium* L.) из семейства *Asteraceae* и млечник морской *(Glaux maritima* L.) из семейства *Primulaceae*. На берегу моря была заложена трансекта, длиной 180 м и шириной 10 м от линии уреза малой воды в отлив до коренного берега. На трансекте были выбраны две пробные площади (ПП), отличающиеся временем заливания в полный прилив и подстилающими породами. Площадь определяли у 50 листьев разных растений. Анатомическую структуру листьев изучали на временных препаратах при помощи светового микроскопа. Измерения анатомических показателей проводили окуляр-микрометром в 100-кратной повторности. Исследование количественных параметров тканей листа выполняли с использованием мезоструктурного анализа согласно А.Т. Мокроносову.

Наибольшая площадь (1976±892 мм^2) листьев у астры солончаковой выявлена у растений, произрастающих на ПП1 около берега. Толщина листьев у растений ПП 1 720±126 мкм и увеличивается у растений ПП 2 до 943±112 мкм, произрастающих у уреза воды. Длина и ширина клеток в среднем на 20% больше в верхней эпидерме по сравнению с нижней. Для растений двух типов ПП различия в размерах клеток для той и другой эпидермы не выявлены. Количество устьиц в эпидерме как на верхней, так и на нижней стороне листа увеличивается вдоль трансекты от берега (47±17 и 37±11 шт.) до уреза воды (91±22 и 87±24 шт.). Площадь устьичных щелей у этого вида в разных условиях обитания достоверно не отличается. Значения площади устьиц на единицу площади листа выше на нижней стороне листа (ПП1 1131 ±422 мкм², ПП2 912± 161 мкм²). На верхней стороне листа этот показатель составляет на ПП1 889±272 мкм² и на ПП2 858±189 мкм². Длина клеток палисадного мезофилла в 2 раза превышает их ширину, но условия обитания не влияли на их размеры. Длина и ширина клеток губчатого мезофилла были сходными (около 28 мкм) и условия обитания также не влияли на эти значения. Количество хлоропластов в клетках палисадного мезофилла незначительно увеличено вдоль трансекты от берега (52±6 шт.) до уреза воды (62±7 шт.). В клетках губчатого мезофилла различия по этому показателю не выявлены. В клетках палисадного мезофилла хлоропластов больше на 15-20%, чем в клетках губчатого мезофилла. Эти различия небольшие по сравнению с наземными растениями, что свидетельствует о близкой фотосинтетической активности двух типов мезофилла. Площадь листьев млечника морского на ПП 1 около берега (54±16 мм^2) и ПП 2 у уреза воды (52±8 мм^2) не изменяется. Толщина листьев увеличивается от берега (416±70 мкм) до уреза воды (459±58 мкм). Длина клеток в среднем на 15%, ширина в среднем на 5-10% больше в верхней эпидерме по сравнению с нижней эпидермой. При этом достоверных различий в размерах клеток как верхней эпидермы, так и нижней эпидермы у растений на двух ПП не выявлено. Количество устьиц на верхней эпидерме вдоль трансекты увеличивается (от 74±15 шт. до 111±24 шт.). Аналогичное увеличение количества устьиц отмечено на нижней эпидерме (от 63±14 до 111±37 шт.). На верхней стороне листьев с увеличение числа устьиц определено уменьшение их площади от 697±84 мкм² до 571±70 мкм². На нижней стороне листьев площадь устьиц также увеличивается, как и их количество (от 670±78 до 957±160 мкм²). Значения площади устьичных щелей на верхней и нижней эпидерме достоверно не отличаются. Длина клеток палисадного мезофилла в 2 раза превышает их ширину. Размеры клеток губчатого мезофилла сходные (около 27 мкм). По количеству хлоропластов в клетках палисадного и губчатого мезофилла вдоль трансекты достоверных различий не выявлено. В клетках палисадного мезофилла хлоропластов больше на 12-13%, чем в клетках губчатого мезофилла.

Таким образом, анализ анатомо-морфологической структуры листьев доминантных видов галофитов, произрастающих в разных условиях приливно-отливной зоны показал, что растения *Aster tripolium* у берега и у уреза воды существенно различаются по площади и толщине листьев, по числу устьиц на единицу площади, растения *Glaux maritima* - по числу устьиц. При этом млечник морской отличается более высоким уровнем стабильности структурных показателей.

Работа выполнена при финансовой поддержке государственного задания Минобрнауки России (проект № 6.724.2014/к).

ПУТИ ПОВЫШЕНИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ НА СЕРОЙ ЛЕСНОЙ ПОЧВЕ ЛЕСОСТЕПИ СРЕДНЕГО ПОВОЛЖЬЯ

Ways of increasing photosynthetic activity of potato plants on gray forest soils in forest-steppe in the Middle Volga Region

Мостякова А.А., Владимиров В.П.

ФГАОУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Казань, Россия
ФГБОУ ВПО «Казанский государственный аграрный университет», Казань, Россия

Исследования проводили в 2011-2013 гг. на серой лесной почве опытного поля Казанского государственного аграрного университета. Почва опытного участка – серая лесная, среднесуглинистого гранулометрического состава. Рельеф опытного участка ровный. Мощность пахотного слоя 24-26 см, pH солевой вытяжки 5,5-5,6, содержание легкогидролизуемого азота 110-122 мг/кг почвы, содержание гумуса по Тюрину 3,15-3,22%, подвижного фосфора 119-123 и обменного калия 140-152 мг/кг почвы, гидролитическая кислотность 5,28-5,36 мг.экв/100 г почвы, сумма поглощенных оснований 25,39-25,48 мг.экв/100 г почвы. Общая площадь делянки 72 м², учетная - 60 м². Размещение вариантов последовательное. Повторность опыта трехкратная. Предшественник - озимая рожь. Глубина посадки 8-10 см. Посадку проводили клубнями средней фракции (60-65 г). Для посадки использовались клубни первой репродукции, густота посадки 53,2 тыс. шт./га.

Удобрения вносились в расчете на получение урожая клубней 25-40 т/га. Органические удобрения носили под осеннюю вспашку, минеральные во время посадки. Фактические дозы удобрений: 1. Расчет на урожайность 25 т/га ($N_{37-58}P_{55-60}K_{121-165}$). 2. Расчет на урожайность 30 т/га (навоз 20 т/га + $N_{37-58}P_{35-40}K_{93-137}$). 3. Расчет на урожайность 35 т/га (навоз 25 т/га + $N_{75-96}P_{70-75}K_{128-172}$). 4. Расчет на урожайность 40 т/га (навоз 30 т/га + N112-133P105-110K164-208).

Внесение расчетных доз удобрений оказало значительное влияние на фотосинтетическую деятельность посадок картофеля. На контрольном варианте без применения удобрений урожай сухой биомассы составил 7,21 т/га, а на фоне внесения удобрений в расчете на урожайность клубней 25 т/га она была на 2,29 т/га больше. Максимальный урожай общей сухой биомассы – 12,96 т/га формировался на фоне внесения удобрений на планируемый урожай клубней 40 т/га. Среднесуточный прирост сухой биомассы по мере повышения фона питания также увеличивался и по сравнению с контрольным вариантом оказался в 1,31-1,79 раза больше. Продуктивность работы листьев (ПРЛ) – это выход клубней на 1 тысячу единиц ФП, На контрольном варианте без внесения удобрений на 1 тыс. единиц ФП растения формировали 8,43 кг клубней, в варианте, где удобрения вносились в расчете на получение урожая клубней 25 т/га – 10,87, в пятом на самом высоком фоне удобрений – 11,21 кг.

По мере увеличения фона питания закономерно повышался и коэффициент использования ФАР растениями картофеля. На контрольном варианте, где удобрения не применялись, его величина составила 1,46%. В варианте, где удобрения вносились в расчете на урожай клубней 40 т/га, его величина составила 2,63%, что в 1,80 раза выше по сравнению с контрольным вариантом.

По эффективному плодородию, урожайность клубней у сорта Жуковский ранний – 17,43 т/га. Внесенные удобрения в расчете на урожай клубней 25-40 т/га практически обеспечили получение таких урожаев. В среднем за три года урожаи клубней 25-35 т/га были получены с превышением на 10,52-4,00%.

Внесение удобрений в расчете на урожайность клубней 25-30 т/га практически не оказало отрицательного влияния на содержание крахмалав клубнях, даже отмечено некоторое увеличение его количества. Дальнейшее повышение фона питания приводило снижению его содержание. Так на фоне, рассчитанном на урожайность 35 т/га снижение содержания крахмала в клубнях составило – 1,0%, а на фоне, рассчитанном на 40 т/га – на 1,4%.

Удобрения, особенно при совместном внесении органических и минеральных, кроме повышенного фона рассчитанного на урожайность 40 т/га, способствовали повышению витамина С в клубнях.

Во всех вариантах опыта содержание нитратов в клубнях оказывалось ниже ПДК, однако с увеличение норм удобрений приводило к повышению их количества. На контрольном варианте, без применения удобрений, нитратов в клубнях содержалось 26,9 мг/кг, на варианте, рассчитанном на урожай клубней 40 т/га – 59,4 мг/кг или в 2,2 раза больше чем на контроле.

По эффективному плодородию серые лесные почвы опытного поля формировали урожай клубней – 17,43 т/га, внесение удобрений под запланированные урожаи в дозах, рассчитанных балансовым методом, обеспечило получение таких урожаев – 25-40 т/га.

Удобрения, внесенные в расчете на запланированные урожаи 25-40 т/га клубней, значительно повысили фотосинтетическую деятельность растений картофеля. Площадь листьев при этом увеличилась на 3,9-15,9 тыс. $м^2$/га, сумма листового фотосинтетического потенциала за вегетацию на 359-1198 тыс. $м^2$ сут/га, коэффициент использования ФАР на 0,47-1,17%.

ПОЛИМОРФИЗМ ПЦР-МАРКЕРОВ НА ОСНОВЕ ГЕНОВ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ ОТВЕТ НА СТРЕСС, У РАСТЕНИЙ *GENTIANA LUTEA* L. ИЗ РАЗНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ УКРАИНСКИХ КАРПАТ

Polymorphism of resistance gene-analog polymorphism markers of *Gentiana lutea* L. plants of different populations from the Ukrainian Carpathians

Мосула М.З.[1], Конвалюк И.И.[2], Мельник В.Н.[2], Дробык Н.М.[1]

[1] *Тернопольской национальный педагогический университет имени Владимира Гнатюка, Тернополь, Украина; maryanamosula@gmail.com*

[2] *Институт молекулярной биологии и генетики Национальной академии наук Украины, Киев, Украина konvalyuk@yandex.ua*

Устойчивость растения – генетически обусловленный признак, который наследуется и может изменяться в течение онтогенеза, а также под влиянием условий окружающей среды. Примером вида, популяции которого растут в различных эколого-географических условиях и подвергаются воздействию пастбищных факторов, является ценный лекарственный редкий высокогорный вид горечавка желтая (*Gentiana lutea* L.). Он относится к категории стенобионтных видов и характеризуется узким диапазоном толерантности к изменениям экологических факторов. Очевидно, недостаточная пластичность генома и является причиной того, что численность популяций этого вида постепенно сокращается как в Украине, так и в остальной части Европы. В современных популяционно-генетических исследованиях представителей семейства Gentianaceae успешно применяют методы молекулярно-генетического анализа на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием различных типов маркеров. CDDP-маркеры (conserved DNA-derived polymorphism) могут быть непосредственно связаны с кодирующими участками функционально важных генов, участвующих в ответе на абиотические, биотические стрессы или отвечающих за регуляцию роста растения. Целью работы было исследование с помощью CDDP-маркеров генетического полиморфизма популяций *G. lutea*, находящихся в различных эколого-географических условиях, и в условиях разной степени антропогенного прессинга.

Генетическую вариабельность *G. lutea* оценивали на основе анализа 86 образцов из шести популяций, расположенных на полонине (пол.) Лемска (Lem), между вершинами гор (гг.) Шешул и Павлик (Sh), на горе (г.) Пожижевская (Pozh) (хребет (хр.) Черногора); на пол. Крачунеска (Kr) и между горами Трояска и Татарука (Tr) (хр. Свидовец). Выделение ДНК, ПЦР с CDDP-праймерами (ERF-F, ABP1-2, MADS-A, MYB, WRKY-A-R, WRKY-B) и гель-электрофорез продуктов амплификации проводили согласно стандартным методикам (Rogers, Bendich, 1985, Мосула и др., 2013, 2014). Для оценки уровня генетического разнообразия рассчитывали: долю полиморфных ампликонов (P), ожидаемую гетерозиготность (He), индекс Шеннона (S).

Среднее количество ампликонов на популяцию, синтезированных CDDP-праймерами, было наиболее высоким при использовании праймера MYB (5 'GGCAAGGGCTGCCGC 3') – 12,5 амп./поп., самим низким – в случае использования WRKY-A-R (5 'GTGGTTGTGCTTGCC 3') – 7,0 амп./поп. Установлено, что праймер MYB, сконструированный на основе гена, функция которого – участие во вторичном метаболизме, в ответах на абиотические и биотические стрессы и в клеточном морфогенезе, амплифицирует большее количество вариантов продуктов (процент полиморфных фрагментов составил 64% – среднее значение для шести популяций), по сравнению с другими использованными нами праймерами. Предполагаем, что вышеупомянутая последовательность в геноме *G. lutea* более полиморфная, чем остальные исследованные.

В целом, природные популяции с хр. Черногора характеризовались более высокими показателями генетического полиморфизма (Sh: 0,110 ± 0,017 (He), 0,160 ± 0,025 (S), 27,5% (P); Lem: 0,152 ± 0,018 (He), 0,229 ± 0,025 (S), 45% (P); HT: 0,172 ± 0,019 (He), 0,253 ± 0,027 (S), 45% (P)), по сравнению с популяциями с Свидовецкого массива (Kr: 0,095 ± 0,016 (He), 0,139 ± 0,023 (S), 24,2% (P); Tr: 0,089 ± 0,015 (He), 0,134 ± 0,022 (S), 25,8% (P)). В популяциях с хр. Свидовец в результате фрагментации местообитаний нарушена возрастная структура и снижена жизнеспособность особей (Майорова и др., 2013). Популяции на Черногорском массиве растут в условиях заповедника, и, в отличие от свидовецких, не подвергаются пастбищному воздействию. Все вышеупомянутое обусловливает более низкий уровень генетической изменчивости Tr и Kr популяций, вызывает изменение их общей генетической структуры и уменьшение стабильности.

Показатели генетического полиморфизма (P, S, He) были самыми высокими для популяции с г. Гутин Томнатик – наименьшей из исследованных нами популяций *G. lutea*. В то же время, наименее полиморфной оказалась агропопуляция с г. Пожижевская (0,056 ± 0,012 (He), 0,089 ± 0,018 (S), 18,3% (P)). Низкий внутрипопуляционный полиморфизм растений с г. Пожижевская, очевидно, обусловлен «эффектом основателя», результатом которого является более низкий уровень генетического разнообразия по сравнению с родительской популяцией (гг. Шешул-Павлик).

Таким образом, анализ шести популяций *G. lutea* показал, что для растений с хр. Свидовец характерны более низкие показатели генетической гетерогенности, что, очевидно, обусловлено эколого-географическими условиями роста, групповыми характеристиками, фитоценотическим окружением и особенностями режима использования.

ХИМИЧЕСКИЕ ЭЛЕМЕНТЫ ПЛОДОВ КУЛЬТУРНЫХ ВИДОВ СЕМЕЙСТВ *ROSACEAE* JUSS. И *GROSSULARIACEAE* JUSS ЦЕНТРАЛЬНОГО РЕГИОНА РОССИИ

Chemical elements of fruit cultivated species families *Rosaceae* Juss. and *Grossulariaceae* Juss. of central region of Russia

Мотылева С.М.

ФГБУН «Всероссийский селекционно-технологический институт садоводства и питомниководства», Москва, Россия; motyleva_svetlana@mail.ru

Химические элементы в продуктах питания имеют большое значение для организма человека. Макро-и микроэлементы плодов оказывают несомненный терапевтический эффект, так как содержатся в плодах в наиболее усвояемой форме, свойственной живой природе в целом. Такие элементы как Zn, Cu, Fe, Ni (группа микроэлементов) обычно содержатся в плодах в малых количествах, но превышение их концентрации (установлено санитарными нормами) приводит к загрязнению продукции (накоплению тяжелых металлов). Биологическая роль Pb мало изучена, часто его относят к безусловным токсикантам. Среди плодово-ягодных растений Центрального региона России самыми распространенными являются яблоня, вишня, слива, смородина черная, крыжовник и земляника, которые часто возделываются в загрязненных районах. Исследования элементного состава плодов актуальны как в связи с изучением особенностей формирования минерального состава, так и в связи с требованиями экологической чистоты растительной продукции. Данная статья является продолжением работ, начатых автором с 1995 г. по изучению содержания тяжелых металлов в плодах садовых растений, произрастающих в Центральном регионе России, Орловской области. Методом энергодисперсионной спектрометрии на анализаторе Mini-Cub (Jeol, Япония) исследовали зольный состав (массовую долю элементов) плодов яблони (*Malus domestica* Borkh*)*, вишни обыкновенной (*Prunus cerasus* L.*)*, сливы (*Prunus domestica* L.*)*, смородины черной (*Ribes nígrum*), крыжовника (*Ribes uva-crispa* L.) и земляники (*Fragaria agagassa)*. Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии определяли концентрацию тяжелых металлов. В плодах исследуемых культур эссенциальные элементы содержатся в различных количествах, которые варьируют в зависимости от вида и сорта. Определен порядок накопления элементов в плодах исследуемых культур: яблоки – K > P > Ca > Mg> S > Zn > Fe > Cu > Cr > Mn; вишня – K > P > Mg > Ca > S > Cu > Fe > Mn Zn Cr; слива – Ca > Mg > K > P > Fe > S > Cr > Zn > Mn > Cu; смородина черная – Ca > K > Mg > P > S > Fe > Zn > Cu > Mn > Cr; крыжовник – K > P > Ca > Mg > Cu S > Fe > Zn > Mn > Cr; земляника – K > S > P > Ca > Mg > Cu > Zn > Fe Cr > Mn.

Несмотря на сходный порядок распределения элементов, их массовая доля в плодах существенно различается. Например, доля калия в золе плодов яблони, вишни, крыжовника и земляники составляет 73, 72, 62 и 49% соответственно. Наибольшее содержание кальция отмечено в плодах сливы, черной смородины и крыжовника (28,9; 28,4 и 18) масс % в золе соответственно. В плодах земляники серы содержится в 5–l0 раз больше, чем в плодах других культур. Из группы микроэлементов в плодах сливы и смородины черной доля цинка в 6 раз больше, чем в плодах других культур, а содержание меди в 1,5–3 раза больше в плодах земляники и крыжовника. Наибольшее содержание железа (0,3–0,5 масс %) обнаружено в золе плодов сливы, смородины черной и крыжовника. Анализ количественного содержания (мг/кг плодов) Cu, Fe, Zn, Ni и Pb показал, что средние содержания и пределы их варьирования не превышают санитарно-гигиенические нормы и колеблются в пределах: Cu (0,185–1,182), Fe (1,150–5,540), Zn (0,250–2,245), Ni (0,15–0,24) и Pb (0,06–0,31). Однако, полученные данные в сравнении со справочными (средними фоновыми) значениями показывают, что присутствие Ni и Pb практически в каждом образце плодов приводит к снижению содержания биогенных элементов Cu, Fe и Zn. Обследование яблоневых садов вблизи автомагистрали и крупного промышленного объекта по переработке цветных металлов показало, что в результате антропогенной нагрузки изменяется характер соотношения элементов в яблоках: количество Fe уменьшается в 2 раза, количество Zn и Pb увеличивается в 1.8 раз, а Ni в 2,6 раза. Эти данные свидетельствует о эффектах синергизма и антагонизма между элементами. Антагонистическое взаимодействие характерно для Fe и Ni (последний снижает поступление Fe в растение); Zn и Pb (снижается перенос Zn в надземные органы растения). По данным B.Khalid, J. Tinsley (1980) соотношение Fe/Ni в большей степени определяет характер токсического действия Ni, нежели его абсолютная концентрация в органах растения. Выявлен характер распределения Ni и Pb по некоторым структурным фракциям плода. Показано, что в кожице плодов сосредоточено от 38 до 80% элементов, в клетчатке плодов их содержание составляет 19–20%, в соке – 16-17%. В процессе созревания плодов (на примере яблони и черной смородины, завязь – зрелые плоды) наблюдается тенденция активного накопления Pb с 0,050 до 0,184 и Ni с 0,120 до 0,350 (мг/кг). Увеличение содержания биогенных элементов при созревании плода незначительно. Также установлено, что до 10–20% этих элементов может быть удалено с поверхности плодов при мытье. Таким образом, изучение особенностей формирования минерального состава плодов показало, что разные плодовые породы характеризуются избирательностью накопления химических элементов в плодах, что в первую очередь обусловлено генетически. Полученные нами результаты свидетельствуют также и о влиянии внешних техногенных факторов на формирование минерального состава плодов.

АКТИВНОСТЬ САХАРОЗОСИНТАЗЫ КАРЕЛЬСКОЙ БЕРЕЗЫ НА РАЗНЫХ ЭТАПАХ ОНТОГЕНЕЗА

Sucrose synthase activity of Karelian birch at the different stages of ontogenesis

Мощенская Ю.Л.[1], Галибина Н.А.[1], Топчиева Л.В.[2]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт леса Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия; tselishcheva.yulia@mail.ru*

[2] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия*

Сахарозосинтаза (СС) – один из ферментов гидролиза сахарозы, присутствует в растении повсеместно, но наибольшая его активность обнаружена в акцепторных тканях, к которым относится растущая и дифференцирующаяся камбиальная зона древесных растений. Мембраносвязанная форма сахарозосинтазы образует комплекс с целлюлозосинтазой, что дает возможность прямого использования полученной в результате активности СС УДФ-глюкозы для биосинтеза целлюлозы. Интенсивная метаболизация сахарозы с участием СС и последующая быстрая утилизация УДФ-глюкозы поддерживают разгрузку сахарозы из ситовидных трубок, создавая градиент концентрации, необходимый для нормального осуществления флоэмного транспорта.

Ранее нами было обнаружено, что активность СС в аномальных по строению тканях ксилемы растений *Betula pendula* var. *carelica*, по сравнению с нормальными по строению древесины растениями *B. pendula* var. *pendula*, была в ~ 2,5 раза ниже. Высказано предположение, что низкая активность СС в период камбиального роста у карельской березы снижает акцепторные способности тканей ксилемы, приводя к существенному возрастанию содержания сахарозы во флоэме, что может быть причиной изменения программы развития клеток камбиальной зоны. У растений обычной березы повислой высокая активность сахарозосинтазы в ксилеме в период камбиального роста способствует более быстрой утилизации сахарозы и использованию образующейся УДФ-глюкозы на синтез компонентов клеточной стенки, в частности целлюлозы, достаточное количество которой обеспечивает формирование нормальной по строению древесины (Галибина и др., 2015).

В настоящей работе приведены результаты изучения активности СС в тканях ствола двух форм березы повислой, различающихся по текстуре древесины, – обычной березы повислой и карельской березы. Исследование проводили в период камбиального роста, когда изменения метаболического статуса клеток камбиальной зоны могут привести к появлению структурных аномалий ксилемы и флоэмы. У разновозрастных (6, 8, 40 лет) растений карельской березы и обычной березы повислой установлена взаимосвязь между степенью проявления признаков узорчатости и активностью сахарозосинтазы в тканях кислемы. Так, у растений карельской березы, имеющих наиболее выраженные признаки узорчатости ствола, наблюдается низкая активность сахарозосинтазы в тканях ксилемы, по сравнению с безузорчатыми растениями.

Для понимания причины пониженной акцептирующей активности СС в ксилеме узорчатых растений была изучена экспрессия генов, кодирующих две изоформы СС Sus1 и Sus2. Исследования проводили на 40 и 8 летних деревьях *B. pendula* var. *pendula* и *B. pendula* var. *carelica*. Выбор изоформ СС был не случаен, так на растениях тополя показано, что уровень экспрессии генов этих двух изоформ значительно преобладает в тканях ксилемы (Zhang et al., 2011). В результате были получены существенные отличия в уровне экспрессии генов, кодирующих изоформы Sus1 и Sus2, как между растениями обычной березы повислой и карельской березы, так и между растениями карельской березы, отличающимися по степени узорчатости древесины.

Для понимания того, на каком этапе онтогенеза начинают формироваться различия биохимических механизмов включения сахарозы в метаболизм, изучили активность сахарозосинтазы на разновозрастных сеянцах (7, 17, 28 недель, 1 год) обычной березы повислой (*Betula pendula* var. *pendula)* и карельской березы (*Betula pendula* var. *carelica)*. Активность фермента определяли в листьях, корнях и тканях ствола растений березы повислой. Получено, что у 7 недельных сеянцев березы повислой наибольшая активность СС наблюдается в листьях, что говорит о преимущественном использовании сахарозы на развитие листового аппарата. У растений же с хорошо развитым листовым аппаратом (17, 28 недель) активность сахарозосинтазы преобладает в стволе и указывает на то, что основная масса метаболитов растения расходуется на дифференциацию клеток проводящих тканей ксилемы и флоэмы. Показано, что активность сахарозосинтазы в стволе выше у растений, выращенных из семян обычной березы повислой по сравнению с растениями карельской березы (соотношение активности фермента, характерное для взрослых деревьев обычной березы повислой и карельской березы).

Таким образом, СС играет ключевую роль в регуляции использования углерода на синтез целлюлозы в проводящих тканях ствола. Подробное изучение ферментативной активности СС и модели экспрессии генов сахарозосинтазного семейства на разных этапах развития растения позволит понять роль фермента СС в механизмах формирования тканей ствола древесных растений и определить ее участие в процессе формирования узорчатой древесины по типу карельской березы.

ФИТОРЕМЕДИАЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ЛЮЦЕРНЫ ПОСЕВНОЙ (*MEDICAGO SATIVA* L.) ПО ОТНОШЕНИЮ К УГЛЕВОДОРОДАМ

Phytoremediation potential of alfalfa (*Medicago sativa* L.) towards hydrocarbons

Муратова А.Ю., Дубровская Е.В., Панченко Л.В., Турковская О.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук, Саратов, Россия; amuratova@yahoo.com

Способность растений более или менее активно противостоять антропогенному загрязнению окружающей среды интенсивно изучается в последние годы в связи с высокой популярностью технологии фиторемедиации. Накопленные к настоящему времени данные экспериментальных и полевых исследований позволяют идентифицировать растительные виды, способные интенсивно аккумулировать или разрушать загрязнители в почве. К таким растениям относится люцерна посевная (*Medicago sativa* L.), известная как эффективный фиторемедиант загрязненных углеводородами (включая полициклические ароматические углеводороды – ПАУ) почв. Целью представленных исследований являлось выявление механизмов фиторемедиации загрязненной углеводородами почвы с использованием люцерны посевной.

Ризосферная деградация является преимущественным механизмом удаления нефтяных углеводородов из загрязненной почвы в процессе фиторемедиации. Принято считать, что ведущим фактором интенсивной деградации углеводородов в корневой зоне растений является «ризосферный эффект», т.е. повышенная под влиянием растительных корневых выделений численность и активность почвенных микроорганизмов. Изучение ризосферного эффекта у люцерны посевной, выращенной как в естественных полевых условиях, так и в экспериментальных вегетационных опытах показало, что это растение действительно поддерживает высокую общую численность гетеротрофных и, особенно, углеводородокисляющих микроорганизмов. Проведенные нами исследования выявили, что люцерна посевная способна селективно поддерживать популяцию микроорганизмов, разрушающих ПАУ. Позже подобные наблюдения были подтверждены другими исследователями. Таким образом, одним из механизмов фиторемедиции загрязненных углеводородами почв с помощью люцерны посевной является селекция ризосферных микроорганизмов-деструкторов поллютанта.

Другим механизмом ризосферной деградации нефтяных углеводородов является собственная ферментативная активность растения, реализуемая через корневую экссудацию окислительных ферментов. Согласно полученным данным, пероксидазная активность люцерны посевной в почве, загрязненной ПАУ, достаточно высока. С одной стороны, известно, что пероксидазы являются ферментами стресса, их биосинтез и активность в растении увеличиваются в ответ на неблагоприятные воздействия. С другой стороны, растительные пероксидазы характеризуются широкой субстратной специфичностью и могут быть вовлечены в различные процессы окисления органических субстратов. Вышеизложенное дает основание предполагать участие выделяемых ферментов в деградации загрязнителя. Основываясь на этом, мы исследовали пероксидазную активность корневых экссудатов люцерны посевной по отношению к некоторым ПАУ и их микробным метаболитам.

Для получения корневых экссудатов люцерны посевной растения выращивали в стерильных условиях в кварцевом песке в присутствии и отсутствии фенантрена в течение 3 недель в контролируемых условиях. В концентрированных с использованием ультрафильтрации образцах корневых экссудатов выявляли активность пероксидаз по окислению различных тест-субстратов (АБТС, ДАФ, *о*-дианизидин и 2,6-диметоксифенол), регистрируемому с помощью спектроскопии. В препаратах корневых экссудатов люцерны пероксидазы проявляли наиболее выраженную активность, тогда как присутствие других оксидоредуктаз, таких как тирозиназы и оксидазы, обнаруживалось на грани чувствительности метода.

С использованием грубых ферментных препаратов корневых экссудатов люцерны установлено, что из 13 исследованных ПАУ-субстратов, включающих собственно ПАУ (фенантрен, антрацен, флуорен) и их окисленные производные, такие как спирты (α-нафтол, 9-фенантрол), хиноны (9,10-фенантренхинон, антрахинон, 9-флуоренон) и кислоты (1-гидрокси-2-нафтойная, 2-формилбензойная (или 2-карбоксибензальдегид), салициловая, фталевая и 2,2'-дифеновая), наиболее успешно подвергались деградации спирты (α-нафтол, 9-фенантрол) и кислоты (1-гидрокси-2-нафтойная и салициловая). Ферментативная активность и спектр окисляемых субстратов пероксидаз корневых экссудатов люцерны по отношению к ПАУ и их производным были больше у растений, выращенных в присутствии фенантрена по сравнению с растениями, выращенными в чистом грунте.

Полученные результаты свидетельствуют о возможности активного участия растения в ризосферной деградации углеводородов и их микробных метаболитов.

МЕЖКЛЕТОЧНЫЕ КОНТАКТЫ У РАСТЕНИЙ: НОВЫЙ ВЗГЛЯД НА ЦИТОМИКСИС

Intercellular contacts in plants: new insights into cytomixis

Мурсалимов С.Р., Сидорчук Ю.В., Дейнеко Е.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской Академии наук, Новосибирск, Россия; deineko@bionet.nsc.ru

Цитомиксис – это процесс миграции ядра из одной растительной клетки в другую по цитомиктическим каналам, межклеточным контактам особого типа, которые отличаются от плазмодесм по своей структуре и размерам. Этот уникальный феномен был открыт более века назад и долгое время воспринимался многими исследователями как артефакт, вызванный повреждениями растительного материала при фиксации и обработке. Однако это предположение вскоре экспериментально было опровергнуто, поскольку любые прямые повреждающие воздействия на клетку полностью останавливали цитомиксис. Межклеточная миграция ядер обнаруживалась в различных типах растительных тканей, например, в клетках апикальной меристемы у древесных растений, вегетативных тканях пыльника и др. Однако чаще всего цитомиксис выявлялся в микроспороцитах.

Ранее среди трансгенных растений табака (*N. tabacum*, SR1) нами были выделены линии, проявляющие высокий (до 50%) уровень цитомиксиса. Известно, что создание генетически модифицированных растений, включающее этап пребывания растительных клеток в условиях *in vitro*, иногда сопровождается изменением числа хромосом в результате сомаклональной изменчивости или Т-ДНК-индуцированными мутациями. Анализ цитологической картины цитомиксиса и причин, приводящих к межклеточной миграции ядер, указал на ведущую роль изменения числа хромосом в индукции и повышении частоты цитомиксиса в микроспороцитах исследуемых растений. Это послужило основанием для создания коллекции разноплоидных растений табака в качестве модели для изучения феномена цитомиксиса и динамики межклеточных контактов в ходе развития микроспороцитов.

На примере созданной модели было показано, что в микроспороцитах табака цитомиктические каналы в клеточной стенке могут образовываться на основе плазмодесм и независимо от них, *de novo*, в результате ферментативной активности сферосомоподобных везикул. Это обеспечивает возможность межклеточной миграции ядер в ходе профазы, даже после изоляции микроспороцитов друг от друга каллозной оболочкой. Посредством флуоресцентной микроскопии была выявлена кластерная организация цитомиктических каналов в каллозной оболочке, причем кластеры формируются в диаметрально противоположных частях микроспороцитов. Это является причиной образования при цитомиксисе цепочек клеток, объединенных мигрирующими в одном направлении ядрами. Ультраструктурный анализ цитомиктичных клеток показал, что между клетками по цитомиктическим каналам мигрирует не просто хроматин или хромосомы, а ядро, со всеми его компонентами (хроматином, ядерным матриксом, ядрышком), окруженными неповрежденной ядерной оболочкой. В некоторых случаях ядро может переходить из донорной клетки в реципиентную целиком, в результате чего образуются двуядерные микроспороциты. Однако гораздо чаще после перехода в другую клетку, отпочковываются лишь мигрировавшие фрагменты ядра, образуя микроядра в цитоплазме реципиентной клетки.

До сих пор неизвестно, что является причиной цитомиксиса и каково функциональное состояние хроматина, мигрирующего между клетками. Впервые нами было установлено, что в мигрирующем хроматине присутствуют нормальные структуры синаптонемного комплекса и отсутствуют признаки апоптоза. При цитомиксисе хроматин, мигрирующий между микроспороцитами, не подвергался избирательной гетерохроматизации или деградации ни до перехода в другую клетку, ни после того, как он оказывался в реципиентной клетке в виде микроядер. С помощью иммуноокрашивания мы проанализировали распределение основных видов модификации гистонов (метилирование, ацетилирование, фосфоролирование), отражающее функциональное состояние хроматина, в ядрах микроспороцитов табака, участвующих в цитомиксисе. Нами впервые показано, что по всем исследованным 14-ти видам модификаций гистонов, хроматин в клетках с цитомиксисом не отличается от хроматина в интактных микроспороцитах. Таким образом, цитомиктичный хроматин сохранял нормальный уровень транскрипционной активности, в нем происходили нормальные процессы конденсации, коньюгации и рекомбинации, соответствующие текущей стадии мейоза. Результаты нашего исследования допускают возможность того, что цитомиксис может быть причиной изменения кариотипа формируемой пыльцы.

Детальный анализ цитомиксиса имеет большое значение как в свете изучения процессов межклеточной коммуникации в растительных тканях, так и для определения эволюционных последствий миграции генетического материала между клетками, принимающими участие в формировании пыльцевых зерен.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №14-04-00992А.

ТОПОГРАФИЯ ЖЕЛЕЗИСТЫХ СТРУКТУР ПО ОРГАНАМ РАСТЕНИЙ *ORIGANUM TYTTANTHUM* GONTSCH. В УСЛОВИЯХ ПРЕДГОРНОЙ ЗОНЫ КРЫМА

Topography of glandular structures of plants organs of *Origanum tyttanthum* Gontsch. in the foothill zone of Crimea

Мягких Е. Ф.

Государственное Бюджетное Учреждение Республики Крым «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма», Симферополь, Россия; origanum.science@mail.ru

Душица мелкоцветковая *(Origanum tyttanthum* Gontsch.) - ценный эфиромасличный вид. Одним из важных аспектов в изучении эфиромасличных растений является определение мест локализации и накопления эфирных масел. К основным структурам, накапливающим эфирные масла, относятся секреторные (железистые) образования, которые имеют эндогенное или экзогенное происхождение и различаются типом, размером и плотностью распределения по органам растения.

Особенности железистого аппарата *O. tyttanthum* изучены на примере двух образцов, отличающихся по массовой доле эфирного масла № 82 (0,38% от абс. сух. массы), № 86 (0,13% от абс. сух. массы), в генеративную фазу развития растений.

Установлено, что железистый аппарат *O. tyttanthum* представлен двумя типами специализированных экзогенных структур: железистыми трихомами с одноклеточной ножкой и одноклеточной головкой (в дальнейшем для удобства изложения - «железистый трихом») и погруженными сидячими железками с 8-клеточной головкой (в дальнейшем - «сидячая железка»). Изученные образцы отличаются по количеству указанных структур на органах.

Основным сырьем для получения эфирного масла *O. tyttanthum* является надземная часть растения, которая характеризуется наличием различных типов железистых образований. Исходя из этого нами изучено место локализации и плотность распределения железистых структур в различных органах (стебель, лист и соцветие) растений душицы мелкоцветковой. В ходе исследований выявлены различия в плотности распределения железистых структур в стеблях у изученных образцов. Низкомасличный образец №86 характеризовался наименьшим, более высокомасличный образец №82 - наибольшим количеством железистых образований на единицу площади - 10,8±1,2 шт./мм и 43,8±2,7 шт./мм соответственно. На стебле встречаются оба типа железистых структур, но преобладают железистые трихомы (54,8-90,7%). Секреторный аппарат листовой пластинки представлен исключительно сидячими железками: 17,1±1,1 - 17,8±0,6 шт./мм^2, расположенными как на абаксиальной, так и на адаксиальной стороне листа. Полученные данные показывают, что у образца № 82 количество железистых структур на верхней стороне листовой пластинки на 42,6% больше по сравнению с нижней. Для образца №86 характерно практически одинаковое число железистых структур с двух сторон листа, имеющиеся различия статистически недостоверны.

Так как соцветие у растений душицы сложное, представленное совокупностью флоральных единиц - открытых колосьев, состоящих из цветков с прицветниками, то исследовали железистые образования на прицветниках, венчике и чашечке. Изучение особенностей секреторного аппарата прицветников исследуемых видов показало, что у исследованных образцов *O. tyttanthum* на прицветниках железистые образования присутствуют в минимальном количестве и только на абаксиальной (наружной) стороне. У образца № 82 железистые образования на прицветниках представлены железистыми волосками (10,5±0,7 шт./мм^2), а у №86 - сидячими железками (0,3±0,1 шт./мм^2). На поверхности лепестков исследованных образцов душицы мелкоцветковой железистые структуры представлены исключительно сидячими железками и встречаются на абаксиальной (наружной) стороне. У образца №86 число железистых структур также невелико, однако оно превышает их число на прицветнике и составляет 2,3±0,3 шт./мм^2. Образец №82 характеризуется сходным числом железистых структур как на прицветнике, так и на венчике: 9,3±0,3 шт./мм^2 на венчике и 10,5±0,7 шт./мм^2 на прицветнике. При исследовании чашечек установлено, что секреторные структуры, представленные сидячими железками, располагаются также только на абаксиальной стороне органа, их количество варьирует от 28,5±1,6 шт./мм у образца № 86 до 84,8±2,8 шт./мм у образца № 82. Полученные данные показывают, что чашечки исследуемых образцов характеризуются наибольшей плотностью железистых образований.

Таким образом, изучение железистого аппарата *O. tyttanthum* в условиях Предгорного Крыма позволило определить топографию железистых структур душицы мелкоцветковой по органам. Секреторные образования *O. tyttanthum* представлены сидячими железками с восьмиклеточной головкой и железистыми трихомами с одноклеточной ножкой и одноклеточной головкой. Следует отметить, что на растении в целом у исследованных образцов преобладают сидячие железки. Однако на поверхности органов образца № 82 помимо сидячих железок, также встречается довольно большое количество железистых трихомов (30,2% от общего количества железистых структур на растении). Максимальное количество секреторных образований у исследованных образцов *O. tyttanthum* находится в соцветиях.

СТРУКТУРНАЯ И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНОВ РЕЦЕПТОРОВ ЦИТОКИНИНОВ КАРТОФЕЛЯ *SOLANUM TUBEROSUM* L.

Structural and functional characterization of cytokinin receptor genes in potato *Solanum tuberosum* L.

Мякушина Ю.А., Ломин С.Н., Архипов Д.В., Романов Г.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений имени К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; yulia-myakushina@yandex.ru

Цитокинины участвуют в регуляции таких биологических процессов растений, как деление клеток, морфогенез побега и корня, ответные реакции на внешние воздействия. Трансдукция цитокининового сигнала в растительной клетке осуществляется путем многоступенчатого переноса фосфата. Роль рецепторов цитокининов выполняют сенсорные гистидинкиназы, которые имеют сложную мультидоменную структуру. Гормонсвязывающей активностью обладает сенсорный модуль, расположенный на N-конце молекулы рецептора. С двух сторон от сенсорного модуля находятся трансмембранные домены. В центральной части белка располагается домен с гистидинкиназной активностью, содержащий остаток консервативного гистидина, способный акцептировать фосфат от АТФ. На С-конце белка находится ресиверный домен, содержащий остаток консервативного аспартата, способного акцептировать фосфат с фосфогистидина.

В настоящее время единственным видом растений, у которого детально охарактеризован аппарат рецепции и трансдукции цитокининового сигнала, является *Arabidopsis thaliana*. Однако глобальные проекты по расшифровке геномов позволяют изучать цитокининовые системы регуляции целого ряда других растений. Недавно был секвенирован и опубликован геном картофеля, что предоставило возможность изучения особенностей сигналинга цитокининов у одной из главных пищевых культур планеты. Для секвенирования был использован дублированный моноплоид *Solanum tuberosum* (вар. Phureja). Было предсказано свыше 30 тысяч генов, кодирующих белки.

Целью данной работы была идентификация и клонирование генов рецепторов цитокининов у тетраплоидного картофеля *S. tuberosum* L. В результате анализа баз данных нами были обнаружены три предсказанных гена сенсорных гистидинкиназ картофеля: *StHK2-like, StHK3-like* и *StHK4-like*, гомологичных соответствующим генам арабидопсиса *AHK2, AHK3* и *AHK4*. Полные последовательности генов *StHK2-like, StHK3-like* и *StHK4-like* составляют 5345, 4216 и 3810 пар нуклеотидов, соответственно. Эти гены кодирует белки длиной в 1263, 1032 и 992 аминокислоты. Анализ аминокислотных последовательностей исследуемых белков StHK2-like, StHK3-like и StHK4-like показал, что предсказанные гистидинкинзы, подобно гистидинкиназам арабидопсиса AHK2, AHK3 и AHK4, имеют мультидоменную структуру и содержат сенсорный модуль, гистидинкиназный и ресиверный домены. Это указывает на то, что данные белки могут успешно выполнять роль рецепторов цитокининов в картофеле.

В своей работе мы проводили амплификацию и клонирование генов цитокининовых рецепторов из генома широко используемого тетраплоидного сорта картофеля Дезире. В результате клонирования и секвенирования гена *StHK4-like* было подтверждено практически полное сходство клонированной последовательности с последовательностью, представленной в базах данных (отмечена только единичная замена нуклеотида гуанина на тимин). Это небольшое различие может быть объяснено сортовыми особенностями секвенированного ранее и исследуемого нами картофеля. Однако дополнительно к этой условно «канонической» последовательности, по ходу клонирования *StHK4-like* были найдены еще 5 изоформ этого гена с 28-мью заменами нуклеотидов и тремя делециями. Изоформы характеризовались различным набором одних и тех же нуклеотидных замен и делеций. Предварительный биоинформатический анализ доменного состава и конформации найденных изоформ StHK4-like не выявил каких-либо существенных различий между ними, способных серьезно повлиять на функциональную активность исследуемых гистидинкиназ. Мы осуществили также клонирование и секвенирование гена гистидинкиназы *StHK3-like*, относящегося к другой группе рецепторов цитокининов. Нуклеотидная последовательность гена картофеля Дезире полностью соответствует последовательности варианта Phureja. К настоящему дню других изоформ этого гена не обнаружено.

Таким образом, в результате исследования генома картофеля сорта Дезире нам удалось обнаружить и клонировать целый ряд полноразмерных генов рецепторов цитокининов. Большинство клонированных генов относится к группе *StHK4-like* и один ген – к группе *StHK3-like*. Это указывает на б льшую сложность аппарата рецепции цитокининов у тетраплоидного картофеля Дезире по сравнению с дублированным моноплоидом Phureja. Предварительная оценка лиганд-связывающих свойств клонированных рецепторов подтвердила способность экспрессированных белков специфично и с высоким сродством связывать природные цитокинины. Дальнейшая работа направлена на максимально полную идентификацию генов рецепторов цитокининов в растениях картофеля сорта Дезире, а также на изучение структуры и лиганд-связывающих свойств соответствующих белков-рецепторов.

Работа поддержана грантом Российского научного фонда 14-14-01095.

ВЛИЯНИЕ СТЕВИОЗИДА НА АНТИОКСИДАНТНУЮ АКТИВНОСТЬ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ АБИОТИЧЕСКОГО И БИОТИЧЕСКОГО СТРЕССА

Influence of stevioside on the antioxidant activity of wheat seedlings under abiotic and biotic stress

Невмержицкая Ю.Ю., Михайлов А.Л., Шаймуллина Г.Х., Тимофеева О.А.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Республика Татарстан, Россия
Yulia.Nevmerzhitskaya@kpfu.ru

Известно, что регуляторы роста растений позволяют повысить стрессоустойчивость сельскохозяйственных культур и их продуктивность. Особенно актуальным является поиск экологически безопасных соединений с выраженным антистрессовым действием. В связи с этим цель нашей работы состояла в выявлении протекторного эффекта стевиозида у растений озимой пшеницы при окислительном стрессе, вызванном тяжелыми металлами и фитопатогенами.

Объектом исследования являлись проростки озимой пшеницы сорта Казанская 560. Растения выращивали в лабораторных условиях в кюветах на водопроводной воде при освещении 100 Вт/м^2 и 12 ч фотопериоде при температуре 23°С. В опытных вариантах растения росли на растворе стевиозида (10^{-8} М). На растворы тяжелых металлов $CdSO_4$, $ZnSO_4$ и $CuSO_4$, в концентрации 10 мкМ и 1 мМ помещали 5-сут проростки. В вариантах с инфицированием семена инокулировали в растворе спор *Fusarium oxysporum* Schlectend.:Fr. и сапрофитного плесневого гриба *Aspergillus niger* в течение суток. Корни 7-сут проростков использовали для определения содержания малонового диальдегида, активности антиоксидантных ферментов. Концентрации стевиозида и тяжелых металлов были подобраны в предварительных экспериментах.

В результате проведенных исследований было установлено, что тяжелые металлы и патогенный гриб *F.oxysporum* вызывали увеличение перекисного окисления липидов. Активность антиоксидантных ферментов изменялась по-разному: $CdSO_4$, $ZnSO_4$ и $CuSO_4$ снижали активность антиоксидантных ферментов, неспецифический патоген *A. niger* активировал аскорбатпероксидазу и каталазу, а *F. oxysporum* повышал активность пероксидаз.

Дитерпеновый гликозид стевиозид (10^{-8}М) уменьшал эффект тяжелых металлов и возбудителей фитозаболеваний на содержание малонового диальдегида и активность ферментов-антиоксидантов, что свидетельствует о его протекторном действии на растения озимой пшеницы в условиях стресса, вызываемого биотическим и абиотическим стрессом.

ИЗМЕНЕНИЯ ФОТОХИМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ *ARABIDOPSIS THALIANA* (L.), ВЫЗВАННЫЕ МУТАЦИЕЙ ГЕНА *ATCLCE*

The *clce* mutation of *Arabidopsis thaliana* (L.) affects its photochemical properties

Неделяева О.И.[1,2], Харитонашвили Е.В.[1], Жигалова Т.В.[1], Аверчева О.В.[1], Беляев Д.В.[2,3], Мясоедов Н.А.[2], Балнокин Ю.В[1,2].

[1] *Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, г. Москва, Россия olga.nedelyaeva@yandex.ru*

[2] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; balnokin@mail.ru*

[3] *Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный, Россия; bdv@ippras.ru*

Семейство CLC-белков включает Cl^--каналы и анион/протонные антипортеры. Гены *CLC* и их продукты идентифицированы в организмах всех царств и вовлечены во многие физиологические функции. В клетках Arabidopsis thaliana обнаружено семь генов этого семейства, CLCa-e, продукты которых локализованы в разных внутриклеточных мембранах. Одним из белков семейства CLC, функции и физиологическая роль которых наименее изучена, является белок тилакоидной мембраны AtCLCe. Была предпринята попытка оценить функциональную роль AtCLCe в фотосинтезе путем изучения индукционных кривых флуоресценции хлорофилла (кривые Каутского) у мутантов *A. thaliana clce* и растений дикого типа (WT) (Marmagne et al., 2007). Полученные данные (более низкий уровень флуоресценции у мутантов, чем у WT) привели авторов к предположению, что у мутантов снижена анионная проницаемость тилакоидной мембраны и благодаря этому изменен ионный состав люмена тилакоидов. От ионного статуса тилакоидов, в свою очередь, зависит восстановленность пула пластохинонов.

В настоящей работе исследовали фотохимическую активность растений гомозиготной линии мутанта *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. экотипа Col-0 и растений дикого типа (ДТ) путем регистрации параметров флуоресценции хлорофилла с помощью импульсного флуориметра Dual-PAM-100. Отбор семян гомозиготной линии был осуществлен методом ПЦР. Растения выращивали в почве в факторостатной камере при температуре 23°C и фотопериоде 16 ч. Перед измерениями растения в течение 3 ч выдерживали в темноте. Проведенные измерения показали, что эффективные квантовые выходы разделения зарядов во второй фотосистеме, Y(II), и скорости разделения зарядов в РЦ ФС, ETR(II), отражающие скорости транспорта электронов в ФС II, у мутантов и растений ДТ мало различались. Однако, нефотохимическое тушение флуоресценции (NPQ) у мутанта было существенно выше, чем у растений ДТ. Коэффициент нефотохимического тушения флуоресценции (qN) у мутанта также был существенно выше. При этом квантовый выход регулируемого нефотохимического тушения флуоресценции Y(NPQ), отражающий энергозависимую тепловую диссипацию энергии возбужденного хлорофилла, у мутанта был выше, а квантовый выход нерегулируемого нефотохимического тушения флуоресценции Y(NO), отражающий диссипацию энергии в ФС II при ее повреждении, был ниже, чем у растений ДТ. Коэффициенты фотохимического тушения (qP) у мутанта и растений ДТ практически не различались. Высказано предположение, что мутация, вызывающая снижение анионной проводимости тилакоидной мембраны, приводит к возрастанию электрической составляющей градиента электрохимического потенциала H^+ и этим повышает уровень энергизации тилакоидной мембраны, что, в свою очередь, активирует механизм регулируемой энергозависимой диссипации тепловой энергии Y(NPQ). Активирование этого механизма, по-видимому, обеспечивает эффективное функционирование ЭТЦ при повышенных интенсивностях света.

Работа поддержана грантом РФФИ 15-04-04712а.

ФОСФАТИДИЛЭТАНОЛАМИН В ПОБЕГАХ СИРЕНИ АМУРСКОЙ (*SYRINGA AMURENSIS* RUPR.): ОСОБЕННОСТИ СЕЗОННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В СРАВНЕНИИ С ДРУГИМИ ПРЕДСТАВИТЕЛЯМИ СЕМ. *OLEACEAE*

Phosphatidylethanolamine in shoots of the Amur Lilac (*Syringa amurensis* Rupr.): particularities of its seasonal changes in comparison with other species of the *Oleaceae* family

Некрасов Э.В., Котельникова И.М.

Амурский филиал Ботанического сада-института Дальневосточного отделения Российской академии наук, Благовещенск, Россия; ed_nekrasov@mail.ru

Фосфатидилэтаноламин (ФЭ) является одним из основных фосфолипидов мембран живой клетки и, помимо структурной, выполняет ряд других важных функций, включая обеспечение кривизны биологических мембран при таких процессах, как везикулярный транспорт и цитокинез, стабилизацию и интеграцию белков и белковых комплексов, в частности в митохондриях, регуляцию активности белковых молекул и передачу сигналов. Мутанты растений с нарушенным синтезом ФЭ имели различные аномалии в развитии.

В связи с нашими предыдущими исследованиями фосфолипазы D в побегах древесных растений мы получили неожиданный результат для сирени амурской (*Syringa amurensis* Rupr.): ФЭ был одним из основных фосфолипидов в молодых побегах, однако почти полностью исчезал в зрелых. Доля других главных фосфолипидов – фосфатидилхолина (ФХ) и фосфатидилглицерина (ФГ) – при этом увеличивалась, тогда как фосфатидилинозита (ФИ) почти не изменялась. Целью представленного исследования стал сравнительный анализ содержания ФЭ в побегах различных представителей сем. *Oleaceae*.

Побеги *S. amurensis*, *Syringa oblata* Lindl. и *Fraxinus mandschurica* Rupr. собирали весной во время роста и сразу после окончания роста, летом в период зрелости и осенью во время старения листьев. Зрелые побеги *Fraxinus rhynchophylla* Hance и *Forsythia* sp. собирали только в летний период. Липолитические ферменты инактивировали в кипящей воде и общие липиды выделяли по модифицированному методу Bligh & Dyer. Разделение полярных липидов осуществляли методом двумерной тонкослойной хроматографии (ТСХ). Обнаружение фосфолипидов на пластинках для ТСХ проводили нингидрином (фосфолипиды, содержащие аминогруппы, в частности, ФЭ), молибдатным реагентом (все фосфолипиды), обугливанием (все липиды). Общие липиды из зрелых побегов *S. amurensis* и *S. oblata* фракционировали на колонке с силикагелем для получения фракций, обогащенных фосфолипидами. Фракции анализировали методом одномерной ТСХ с обнаружением липидов, как описано выше.

Как и в предварительном опыте, мы обнаружили ФЭ в растущих побегах сирени амурской, а также в молодых побегах и листьях, закончивших рост, в весенний период. В летний период ФЭ отсутствовал в зрелых побегах этого вида. Это наблюдение подтвердили после фракционирования общих липидов на колонке с силикагелем. Фракции, обогащенные фосфолипидами, не содержали ФЭ. Напротив, в конце вегетационного периода в ходе старения листьев ФЭ вновь был вторым основным после ФХ фосфолипидом побегов *S. amurensis*.

Анализ фосфолипидов в побегах других представителей семейства *Oleaceae* не выявил подобных особенностей. У другого вида рода *Syringa* – *S. oblata* – ФЭ обнаружен как в молодых, так и зрелых, и стареющих побегах. После фракционирования общих липидов из зрелых побегов этого вида на колонке с силикагелем ФЭ присутствовал во фракции фосфолипидов. В зрелых побегах представителей родов *Fraxinus* (*F. mandschurica*, *F. rhynchophylla*) и *Forsythia* этот фосфолипид также был среди основных наряду с вышеперечисленными (ФХ, ФГ, ФИ).

Причины исчезновения ФЭ в зрелых побегах сирени амурской, равно как и адаптивные преимущества или недостатки вида в этой связи еще предстоит выяснить. Можно лишь предполагать, что это связано с биосинтезом ФЭ. Биосинтез ФЭ осуществляется тремя путями: 1) путь Кеннеди через цитидилдифосфатэтаноламин; 2) декарбоксилирование фосфатидилсерина (ФС) – минорного липида растительных тканей; 3) посредством обмена оснований, причем путь (1) для растений предполагается как основной. Примечательно, что наряду с ФЭ в зрелых листьях сирени амурской также не удалось обнаружить ФС, хотя в молодых тканях он присутствует в заметных количествах. В зрелых побегах *S. oblata*, наряду с ФЭ присутствует и ФС.

Сезонные изменения в содержании ФЭ в листьях сирени амурской свидетельствуют о потенциальном участии этого фосфолипида или клеточных структур, в чей состав он входит, в процессах роста и старения листьев.

ЭКЗОГЕННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ УСТОЙЧИВОСТИ КОРНЕСОБСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ ВИНОГРАДА СОРТА БИАНКА К ПОРАЖЕНИЮ ФИЛЛОКСЕРОЙ

Exogenous control of the resistance of scion-rooted grape plants cv. Bianka to phylloxera

Ненько Н.И., Киселева Г.К., Сундырева М.А.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства», Краснодар, Россия; nenko.nataliya@yandex.ru

Филлоксера, занесенная в европейские страны из Америки, относится к семейству тлей и является опаснейшим вредителем винограда. Она приводит к гибели корневой системы почти всех сортов и гибридных форм вида *Vitis vinifera* в связи с развитием вторичного патологического процесса, вызываемого фитопатогенными микроорганизмами. Один из путей решения этой задачи – активировать иммунную систему растений. С этой целью перспективно использование в качестве индукторов защитных реакций абиогенных (синтетических) элиситоров (низкомолекулярных иммуномодулирующих соединений) аналогов природных веществ, повышающих устойчивость растений к поражению фитопатогенами и запускающих в растении механизмы иммунизации. К таким препаратам можно отнести Фуролан, повышающий устойчивость растений к поражанию фитопатогенами. Ранее было установлено, что он повышает устойчивость растений озимой пшеницы к поражению фузариозной корневой гнилью и фузариозом колоса вследствие увеличения содержания лигнина в тканях растения.

Цель работы - изучить влияние Фуролана на устойчивость корнесобственных растений винограда с. Бианка к поражению филлоксерой. В 2013 и 2014 гг. в ЗАО «Приморское», пос. Приморский Темрюкского района Краснодарского края были заложены мелкоделяночные опыты на корнесобственных растениях районированного технического винограда с. Бианка 2006 г. посадки. Формировка кустов винограда – высокоштамбовый односторонний кордон. Схема посадки кустов 4,0 х 2,5 м. Повторность четырехкратная. В повторности - 5 кустомест. Содержание лигнина в корнях винограда определяли весовым методом, его метаболического предшественника - хлорогеновой кислоты, аминокислоты глицина, входящей в состав GRP-белков, и пролина – входящего в состав PRP-белков, входящих в состав клеточных стенок – методом капиллярного электрофореза на приборе Капель 105М. Варианты опыта: контроль (без обработки), обработка растений пиретроидом Фастак, КЭ – 0, 36 л/га (эталон сравнения) и Фуроланом – 10 г/га.

В 2014 г. варианты опыта размещены на тех же растениях, что и в 2013 г. В начале вегетации 2014 г. отмечалось пролонгированное действие препаратов на перезимовку растений. Количество распустившихся глазков в контроле составило 93,2%, в варианте с Фастаком – 94,9%, в варианте с Фуроланом – 96,2%. К моменту закладки опыта 6.06.2014 г. на листьях основных побегов развивалось второе поколение вредителя. Самая высокая численность листовой формы филлоксеры отмечалась в контроле (17%). На 78% меньше, чем в контроле были заселены вредителем листья на основных побегах в вариантах с Фуроланом. В варианте с Фастаком листовой формы филлоксеры не обнаружено. Наибольшая биологическая эффективность по сдерживанию заселения вредителем пасынковых листьев отмечалась в вариантах с Фуроланом (62%) и с Фастаком – 79%. Устойчивость растений к поражению филлоксерой обусловлена увеличением в листьях содержания аминокислоты глицина, входящего в состав GRP-белков, в варианте с Фуроланом в 3,8 раза и в варианте с Фастаком – в 2,2 раза и пролина – входящего в состав PRP- белков – в варианте с Фуроланом – на 86% в сравнении с контролем. Установлено, что в августе самое высокое содержание хлорогеновой кислоты (0,22-0,41 мг/г) – предшественника лигнина в листьях и лигнина (14,9–23,4 мг/г) – в корнях растений винограда отмечается в вариантах с применением Фуролана в сравнении с контролем (0,13-0,19 мг/г и 2,1-13,7 мг/г, соответственно) и Фастаком (0,16-0,26 и 2,8-14,2 мг/г, соответственно). Большее содержание хлорогеновой кислоты в листьях и лигнина – в корнях винограда создает условия неблагоприятные для поражения их фитопатогенами и филлоксерой. Это подтверждается результатами определения образования клювиков (повреждений на корне) корневой формы филлоксеры. Анатомо-морфологическими исследованиями обнаружено проникновение личинок филлоксеры в паренхиму корня. На поперечном срезе корня обнаружено образование клубеньков, затрудняющее поглощение питательных веществ. Клубеньки образуются под воздействием секретов слюны корневой филлоксеры. В варианте с обработкой растений Фуроланом обнаружено наименьшее количество клубеньков, причем они отличались меньшими размерами в сравнении с контрольным вариантом опыта. В этом варианте обнаружено образование раневой перидермы вследствие появления раневого феллогена, которая изолирует поврежденные ткани и препятствует распространению некроза вглубь корня, а также проникновению патогенов.

Таким образом, препараты Фуролан и Фастак повышают устойчивость корнесобственных растений винограда с. Бианка к поражению филлоксерой. Использование препарата Фуролан на растениях винограда в дозе 10 г/га является эффективным нанотехнологическим приемом и представляет несомненный практический интерес.

Работа поддержана грантом №13-04-96590 РФФИ и администрации Краснодарского края.

ВЛИЯНИЕ СТАРЕНИЯ НА СВЕТОВУЮ ЗАВИСИМОСТЬ ПАРАМЕТРОВ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА ЛИСТЬЕВ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

The influence of leaf senescence on light dependence of chlorophyll fluorescence parameters

Нестеренко Т.В., Шихов В.Н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биофизики Сибирского отделения Российской академии наук, Академгородок, Красноярск, Россия; ubflab@ibp.ru

Возрастная зависимость параметров индукции флуоресценции хлорофилла (ИФХ) для листьев высших растений — известный факт. Однако практически отсутствуют сравнительные исследования степени этой зависимости для разных флуоресцентных параметров. Кроме того, показано влияние на степень возрастной зависимости параметров уровня интенсивности возбуждающего флуоресценцию хлорофилла света – «действующего света» (ДС). В работе на примере листьев одно- и двудольного растений изучали влияние старения на световую зависимость параметров индукции флуоресценции хлорофилла листьев высших растений. Объектом исследования служили высечки разновозрастных равномерно освещенных листьев растений редиса сорта «Моховский» и пшеницы *Triticum sativus* L. Растения выращивались в вегетационной камере методом гидропоники на керамзите в контролируемых условиях при облученности 150 Вт/м^2 фотосинтетически активной радиации (ФАР). Температуру воздуха круглосуточно автоматически поддерживали на уровне 24±1°С. Относительная влажность воздуха составляла 65–75%. Для измерений ИФХ использовали равномерно освещенные листья верхнего яруса растений. Регистрацию кривых медленной стадии ИФХ проводили с помощью флуориметра PAM-2100 (Heinz, Walz, Германия) при интенсивностях действующего света 100, 150, 220 и 350 Вт/м^2 ФАР. Для интегральной оценки фотосинтетической активности листа использовали отношение максимального уровня флуоресценции медленной стадии ИФХ (интенсивность флуоресценции в максимуме P) к стационарному уровню флуоресценции хлорофилла листа F_p/F_s. Определяли также максимальный фотохимический квантовый выход ФС II - F_v/F_m; эффективный фотохимический квантовый выход ФС II – Yield; показатели фото- (qP) и нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла (qN и NPQ) и «индекс жизнеспособности» R_{fd}.

Показано, что различия в световой зависимости отношения F_p/F_s для зрелых и начинающих стареть листьев редиса проявлялось в понижении уровня насыщения световой зависимости старых листьев по отношению к световым кривым листьев, находящихся на стадии зрелости. Наиболее резкие изменения значений отношения F_p/F_s для более старых листьев имели место в начале исследуемого светового диапазона (при 100 – 150 Вт/м^2 ФАР). Анализ относительных изменений величин характеристик ИФХ разновозрастных листьев пшеницы при увеличении интенсивности возбуждающего флуоресценцию света от 100 до 220 Вт/м^2 ФАР показал, что наиболее чувствительными к возрастному состоянию листьев являются «индекс жизнеспособности» R_{fd} и показатели нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла фотосистемы 2 (NPQ, qN). При этом, изменения значений, полученных при двух уровнях интенсивности ДС, например 100 и 220 Вт/м^2 ФАР, были минимальны для зрелого (9-ти сут) листа пшеницы и возрастали для стареющих 16-ти сут листьев, соответственно, примерно в 4 раза для R_{fd}; в 6 раз для показателя NPQ и почти в 7 раз для листьев тех же сравниваемых возрастов для qN. Изменения значений наиболее чувствительных к возрасту листьев флуоресцентных показателей могут быть использованы как тесты для экспресс-определения возраста листа, что является актуальным при изучении реакции растений на длительные стрессовые воздействия.

БИОХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МИКРОДОМЕНОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ РАЗНЫМИ МЕТОДАМИ

Biochemical characteristics of microdomains isolated by different methods

Нестеркина И.С., Озолина Н.В, Нурминский В.Н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия; nirinka24@mail.ru

Известно, что биологические мембраны асимметричны. В настоящее время доказано, что определенные участки мембраны организуются в обогащенные холестерином «рафты», в которых липиды находятся в новом фазовом состоянии, жидкоупорядоченном, т.е. они более плотные, чем остальные области мембраны, и потому свободно дрейфуют в окружающем пространстве.

Благодаря своим специфическим особенностям и строению, рафты могут участвовать в разнообразных физиологических процессах (передача сигнала, проникновение вируса в клетку).

Все выше сказанное объясняет большой интерес к изучению липидных рафтов. Нами были проведены подобные исследования по обнаружению рафтов на вакуолярной мембране. Данный объект был выбран потому, что вакуолярная мембрана играет большую роль в жизни растительной клетки, а ее структурная организация недостаточно изучена. Хотя известно, что тонопласт содержит до 80% липидов от общего веса, но работ по обнаружению липидных рафтов проведено не было.

На первом этапе исследования мы взяли за основу методику получения рафтов при помощи детергента, которая была разработана для плазматической мембраны, модифицировали ее и применили к нашему объекту. Данная методика выбрана потому, что устойчивость стерин-обогащенных микродоменов к детергенту является основным критерием для отнесения их к рафтам.

Получив при помощи данного метода микродомены, нами были проведены исследования их основных биохимических и биофизических характеристик для построения системы доказательств, что мы выделили именно рафты или стерин-обогащенные микродомены. Результаты этих исследований показали, что по всем характеристикам, полученные микродомены соответствовали рафтам. А именно: выделенные микродомены содержали больше сфинголипидов, стеринов и насыщенных жирных кислот по сравнению с тонопластом. К тому же липиды микродоменов тонопласта более упорядочены, чем липиды вакуолярной мембраны. Это значит, что полученные микродомены плотнее, чем мембрана, из которой они выделены. Для полноты картины необходимо изучить функции микродоменов тонопласта, за которые в основном отвечает белковая составляющая рафтов. Эксперименты, проведенные в этом направлении дали очень мало информации, так как детергентный метод выделения микродоменов существенно изменяет количественный и качественный состав белков микродоменов. Это стало основной причиной, по которой мы обратились к бездетергентному методу выделения рафтов. Согласно литературным данным, при помощи этого методы коллеги из разных стран выделяли микродомены, характеристики которых соответствовали рафтам.

Полученные нами данные отличались от литературных и ожидаемых нами. В результате сравнения микродоменов, полученные детергентным и бездетергентным методами, выяснилось, что они отличаются по ряду основных биохимических и биофизических характеристик. Так, липиды микродоменов выделенных без детергентным методом менее упорядочены, чем липиды микродоменов, выделенных детергентным методом. Содержание насыщенных жирных кислот (отвечающих за плотность микродоменов) так же было ниже. Количество сфинголипидов и стеринов было меньше, чем в микродоменах, выделенных детергентным способом, но несколько выше, чем в вакуолярной мембране из которой они были выделены..

По этим данным мы не можем отнести полученные бездетергентным способом микродомены к рафтам. Однако мы предполагаем, что это другой тип микродоменов. Так как в работах исследователей, где в качестве объекта были использованы мембраны животных, но также сравнивались разные методы выделения, был сделан вывод о том, что мембранные структуры, выделенные с использованием детергента и без него, могут представлять различные микродомены, каждый из которых обладает своими функциями.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №14-04-31103 мол_а.

ИССЛЕДОВАНИЕ АДАПТАЦИЙ *SALICORNIA PERENNANS* К ЗАСОЛЕННЫМ ПОЧВАМ БАССЕЙНА НИЖНЕЙ ВОЛГИ

Нестеров В.Н., Розенцвет О.А., Богданова Е.С., Сорокин А.Н.

Институт экологии Волжского бассейна РАН, Тольятти, Самарская обл., Россия; nesvik1@mail.ru

Исследование адаптации растений к факторам окружающей среды является одним из наиболее интересных и важных направлений современных биологических наук, таких как фитофизиология, экология и биохимия растений. По имеющимся оценкам одной из общих тенденций изменения биосферы является аридизация климата и расширение площади пустынных территорий, сопровождаемых, в том числе, усилением засоления почвы. В условиях Нижнего Поволжья крупные озера, в частности солоноводные, являются своеобразными локальными «центрами биоразнообразия», где на небольшой по площади территории сконцентрировано многообразие растительных сообществ, прежде всего галофитных.

Галофиты – растения, эволюционно приспособленные произрастать на засоленных территориях за счет механизмов адаптации, проявляющихся на различных уровнях организации – от молекулярного до организменного. *Salicornia perennans* Willd. (Chenopodiaceae) – однолетнее травянистое растение–эугалофит. Данный вид представляет научный интерес для исследователей, так как выдерживает высокую степень засоления почвы, обладает пищевой и лекарственной ценностью, может использоваться в биорегенеративных системах жизнеобеспечения.

Цель работы – исследовать адаптации *Salicornia perennans*, произрастающего в условиях засоленных почв бассейна Нижней Волги.

Отбор растительного материала и его анализ производили в июне и сентябре 2014 г. Районы исследований – бассейны соленых озер Большой Морец, Булухта, Эльтон, Баскунчак. Установлено, что *S. perennans* произрастал на почвах с влажностью от 4 до 38%, при степени засолении от 2 до 8% от сухой массы почвы. Были установлены следующие взаимосвязи: сухая масса экземпляра и содержание в почве магния, r=0,46, при p=0,05; Сырая масса растений и содержание в них гликолипидов, r=0,67, при p=0,01; Соотношение надзем./подзем. биомасса и содержание в почве азота, r=0,48, при p=0,04; Проективное покрытие вида и сухая масса экземпляра, r= –0,56, при p=0,04. Кроме того, установлено, что клетки листьев *S. perennans* были крупнее приблизительно в 4 раза и имели в 1,5 раза больше хлоропластов, чем, например, у крино- и гликогалофитов. Однако содержание зеленых и желтых пигментов в листьях *S. perennans* было низким, не характерным для большинства растений – не более 0,5 мг/г сыр. массы, а содержание мембранных липидов – не более 3 мг/г сыр. массы, что вероятно обусловлено высокой степенью освещения территории и засоленностью почвы.

Таким образом, растения вида *S. perennans* приспособлены к засоленным почвам с помощью адаптаций, проявляющихся на различных уровнях организации – от клеточного до организменного и популяционного.

РЕАКЦИЯ КЛЕТОК ФЕНОЛНАКАПЛИВАЮЩЕЙ КУЛЬТУРЫ ЧАЯ НА ДЕЙСТВИЕ ОКСИБЕНЗОЙНЫХ КИСЛОТ И НИЗКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ

Response of phenolaccumulating tea culture to hydroxybenzoic acids and low temperature

Нечаева Т.Л., Загоскина Н.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия; NechaevaTatyana.07@yandex.ru

Фенольные соединения относятся к числу наиболее распространенных вторичных метаболитов, функциональная роль которых связана с процессами фотосинтеза, дыхания, роста, развития и защиты растений. Одними из первых по шикиматному пути биосинтеза образуются оксибензойные кислоты, которые достаточно широко распространены в растениях. К их числу относятся такие соединения как *n*-оксибензойная и салициловая кислоты. Последняя вызывает большой интерес и рассматривается как индуктор системной приобретенной устойчивости к патогенам, а также как участник формирования устойчивости растений к абиотическим стрессам. Что касается ее близкого аналога - *n*-оксибензойной кислоты, имеющей тот же химический состав, но отличающейся по положению гидроксильной группы, то ее роль изучена в значительно меньшей степени.

К числу перспективных фенолнакапливающих культур относятся растения чая (*Camellia sinensis* L.), которые культивируются преимущественно в странах с субтропическим и тропическим климатом. В России чай выращивают в Краснодарском крае (район г. Сочи) по самой крайней северной линии его возможного произрастания. Среднемесячная зимняя температура в этом районе составляет 6°С. Однако, в последние годы все чаще наблюдаются кратковременные периоды с более низкими температурами, что негативно сказывается на устойчивости чая и качестве его листа, в том числе накоплении полифенолов. Все это свидетельствует о поиске новых подходов к защите культуры чая, в том числе и за счет использования экзогенных соединений. Удобным объектом для таких исследований являются каллусные культуры, сохраняющие в условиях *in vitro* способность к накоплению полифенолов (не менее 10% на сухой вес).

Целью настоящего исследования являлось изучение воздействия салициловой (СК) и *n*-оксибензойной (ОК) кислот на калусные ткани чайного растения и их последующей реакции на низкую положительную температуру.

При проведении эксперимента гетеротрофную каллусную ткань чая (*C. sinensis* L., грузинская разновидность) в фазе активного роста асептически выдержали 2 ч в водных растворах СК и ОК (концентрация 10^{-5} М), контрольный вариант - в H_2O. После экспозиции культуру перенесли в чашки Петри на основную питательную среду Хеллера и выдерживали при 3°С в течение 16 ч.

В контрольном и опытных вариантах определили уровень ПОЛ (по содержанию малонового диальдегида), содержание суммы фенольных соединений, фенилпропаноидов, а также основных соединений чая - флаванов и их олигомерных форм – проантоцианидинов.

Определение интенсивности ПОЛ, как важного показателя состояния антиоксидатной системы растений показало, что он бы самым низким в контрольном варианте каллусных культурах чая, растущих в обычных условиях (темнота, 24°С). Для опытных вариантов повышение содержание малонового диальдегида отмечалось лишь после воздействия СК. Что касается фенольных соединений, включая флаваны и проантоцианидины, то их накопление в вариантах с ОК и СК возрастало по сравнению с контролем. В большей степени этот эффект был выражен в варианте с воздействием СК и в меньшей степени – с ОК (в 3 и 2 раза, соответственно, по сравнению с контролем).

Последующее воздействие низкой положительной температуры на каллусные культуры вызывало незначительное увеличение интенсивности ПОЛ в контроле и варианте с действием ОК, и снижение – в варианте с СК. В целом же эти условия (3°С, 16 ч) не являлись стрессовыми для каллусов чая. В тоже время изменения в накоплении фенольных соединений были нами отмечены. В контрольном варианте это проявлялось в увеличении содержания проантоцианидинов, на фоне практически неизменного суммарного количества полифенолов и флаванов. Для опытных вариантов (воздействие на каллусы ОК и СК, а затем низкой температуры) тенденция была совершенно иной – уровень этих вторичных метаболитов снижался, что было более выражено в варианте с ОК.

Исходя из полученных данных можно заключить, что экзогенное воздействие двух близких по химическому составу оксибензойных кислот вызывало сходную картину изменений в накоплении различных классов фенольных соединений в каллусных культурах чайного растения, но более выраженную в случае СК.

ИЗМЕНЕНИЕ ПЕРОКСИДАЗНОЙ АКТИВНОСТИ У КАРЕЛЬСКОЙ БЕРЕЗЫ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ НАСЫЩЕННОСТИ ТЕКСТУРЫ ДРЕВЕСИНЫ

Peroxidase activity variability in the Karelian birch depending on the richness of pattern in the wood

Никерова К.М., Галибина Н.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт леса Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия; knikerova@yandex.ru, galibina@krc.karelia.ru

Пероксидаза – фермент, имеющий широкий спектр действия. В растении он выполняет огромное количество функций, среди которых защита организма от вредного воздействия перекиси водорода и других активных форм кислорода, образующихся при окислительном стрессе (Андреев, 2001; Jansen et al., 2001; Rizhsky et al., 2002), участие в процессах дифференциации тканей и органов высших наземных растений за счет регуляции уровня фитогормонов (Borchert, 1978; Рогожин, 2004; Gove, Hoyle, 1975; Половникова, 2010). Пероксидазе также принадлежит ключевая роль в процессе лигнификации (Андреева, 1988; Шарова, 2004; Черепанова, 2005; Fry, 1979; Donaldson, 2001) . В последнее время появились работы, в которых пероксидазе, наряду с другими ферментами антиоксидантной защиты, отводится большая роль в адаптации растений к изменению азотного питания (Викторова и др., 2010; Дубровская и др., 2007; Карпец и др., 2011; Dani et al., 2005; Wilson et al., 2008). Кроме того, для этого фермента характерно наличие огромного количества изоформ, вследствие чего использование различных субстратов и широкий диапазон pH-условий. Благодаря этому, пероксидазная активность обнаружена в различных клеточных компартментах, тканях, органах растений. Необходимо отметить, что в большинстве случаев субстратами пероксидазного окисления являются вещества фенольной природы, а именно, класса флавонолов, которые находятся в растении в виде гликозидов. Одновременно флавонолы выполняют функцию низкомолекулярных антиоксидантов.

Объект нашего исследования - карельская береза (*Betula pendula* Roth var. *carelica* (Mercklin)) которая является особой формой березы повислой (*Betula pendula* var. *pendula*) и ценится из-за своей древесины, отличающейся богатой палитрой оттенков и причудливыми узорами. Узорчатая древесина различна по текстуре, узорчатость может быть выражена в большей или меньшей степени.

Таким образом, цель работы состояла в изучении активности пероксидазы в органах и тканях у двух форм березы повислой, различающихся по текстуре древесины, - обычной березы повислой (*B. pendula* var. *pendula*) и карельской березы (*B. pendula* var. *carelica)*. На анализ отбирали ткани ксилемы в период активного роста. Активность пероксидазы определяли спектрофотометрическим методом по уменьшению оптической плотности субстрата во времени, которая свидетельствовала о расходовании субстрата при действии фермента (спектрофотометр СФ-2000, Россия).

Субстратом пероксидазного окисления был кверцетин. Ранее данный субстрат не использовался для изучения реакций пероксидазного окисления, однако известно, что, согласно своим физико-химическим характеристикам, он хорошо поддается окислению. Кверцетин является сильнейшим антиоксидантом, широко распространенным в различных видах растений, применяется в фармацевтической промышленности. Одно из важных преимуществ использования данного субстрата по сравнению с применяемыми субстратами химической природы – это его наличие в растениях. Следовательно, при наступлении окислительного стресса, растение может вовлечь данный субстрат в реакцию высвобождения от образовавшихся активных форм кислорода. То есть мы можем рассмотреть не только химизм реакции, но и дать физиологическую интерпретацию для наблюдаемого явления. Изучение активности фермента проводилось при различных pH.

Нами выявлены различия между значениями активности в градиенте pH. Необходимо заметить, что наблюдается сходная тенденция у обеих (*B. pendula* var. *pendula* и *B. pendula* var. *carelica*) форм, однако количественные значения активности выше у *B. pendula* var. *carelica.* Наиболее нестабильные значения активности - при краевых значениях pH у обеих форм. Такие условия не встречаются в клеточных органеллах, поэтому понятно такое поведение кверцетина как субстрата пероксидазного окисления в процессах, происходящих в растительном организме, так как здесь имеет место только химизм реакции. Наиболее стабильно ферментативное окисление проходит в слабощелочной среде, а варьирует в кислой. При pH=7,7 процесс окисления кверцетина протекает по каскадному механизму и дает наилучший отклик.

Получено, что активность пероксидазы в реакции окисления кверцетина была выше в кислой среде по сравнению со щелочной средой, что свидетельствует о большей активности апопластных и вакуолярных форм фермента по сравнению с цитоплазматическими. Самое высокое сродство к субстрату выявлено для кислых пероксидаз в ксилеме деревьев с проявившейся узорчатостью древесины, их активность значительно превышала активность пероксидаз в ксилеме обычной березы повислой. В результате проведенного исследования обнаружена прямая корреляция между степенью узорчатости древесины и пероксидазной активностью. Обсуждается участие пероксидазы в метаболических процессах, предшествующих формированию структурных аномалий в камбиальной зоне карельской березы.

РАЗМНОЖЕНИЕ И СОХРАНЕНИЕ РОССИЙСКОЙ ОРХИДЕИ *DACTYLORHIZA LONGIFOLIA IN VITRO*

Propagation and conservation of Russian orchid (*Dactylorhiza longifolia*) *in vitro*

Никишина Т.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; orchidcryo@mail.ru

Семейство *Orchidaceae,* к которому относится вид *Dactylorhiza longifolia* (L. Neumann) Aver. – крупнейшее среди однодольных растений. Большая часть видов из этого семейства нуждается в сохранении. Вид *D.longifolia* занесен в Красную книгу Российской Федерации и Красные книги других стран.

Растения из семейства *Orchidaceae* образуют микроскопические (около 1 мм в длину) семена с маленьким недифференцированным зародышем, лишенным эндосперма. Вследствие этого семена орхидей имеют ряд особенностей прорастания. Так, в природе, для прорастания семян необходима помощь грибов – симбионтов, которые снабжают углеводами образующиеся проростки – протокормы. К тому же в естественных условиях семена орхидей сохраняют всхожесть очень непродолжительное время (от нескольких месяцев до 3-х лет в зависимости от вида). А семена орхидей умеренной климатической зоны становятся способными к прорастанию только после окончания периода покоя.

Для оптимизации процесса проращивания и увеличения количества сеянцев используют технологию культивирования растений *in vitro.* Семена орхидей проращивают на специальных питательных средах. Известно, что всхожесть семян орхидей и дальнейший рост их проростков сильно зависит от подбора состава питательных сред и условий культивирования.

Мы наблюдали, что всхожесть *in vitro* семян ряда наземных видов, произрастающих на территории РФ, не превышает 1-10%. В процессе культивирования протокормов, полученных из семян таких трудно прорастающих видов, мы также отмечали высокий процент их гибели. Лишь небольшая часть проростков этих видов доживала до размера оптимального для их высадки в грунт (около 2 см высотой).

Один из способов решения этой проблемы – клонирование растительного материала, сформировавшегося из проросших семян. В частности, с помощью добавления к питательной среде определенных фитогормонов, можно индуцировать процесс почкования протокормов.

Образцы семян *D. longifolia* были собраны в Подмосковье в природных популяциях. Средний размер собранных семян составлял – 750±24 мкм в длину. Семена имели зародыш длиной – 190±6 мкм. После обработки поверхности семян стерилизующим агентом их проращивали в темноте при температуре 26°С на безгормональной питательной среде Basic Medium (BM), содержащей только органический азот. Первичные протокормы начинали образовываться в конце второго месяца культивирования. Сформированные протокормы культивировали на той же питательной среде в темноте при 26°С в течение 12 месяцев. Через 12 месяцев протокормы размером от 500 мкм до 1000 мкм пересаживали на свежую питательную среду BM, дополненную различными концентрациями 6-БАП (0,2-2,0 мг/л) и сахарозы (2-6%). После трех месяцев культивирования в темноте при температуре 26°С на некоторых средах было отмечено начало формирования новых протокормоподобных тел (ППТ) на первичных протокормах. Так, на питательной среде с 0,2 мг/л 6-БАП и 2% сахарозы, количество ППТ через 6 месяцев увеличилось в 3,5 раза, а через 7 месяцев в 3,62 раза. На питательной среде, содержащей 2,0 мг/л 6-БАП и 2% сахарозы, через 6 месяцев культивирования, мы наблюдали увеличение количества ППТ в 6,25 раза и в 7,25 раз через 7 месяцев культивирования. Таким образом, увеличение содержания 6-БАП приводило к стимуляции формирования ППТ на первичных протокормах. Причем длительное, 12-ти месячное депонирование первичных протокормов не отразилось негативно на их способности к размножению. Увеличение в питательной среде концентрации сахарозы до 6% даже на фоне 2,0 мг/л 6-БАП не способствовало образованию новых ППТ и к тому же приводило к частичной гибели первичных протокормов. На средах без цитокининов мы также не наблюдали образования новых ППТ.

Таким образом, на среде BM с 2,0 мг/л 6-БАП и 2% сахарозы коэффициент размножения ППТ достигал 7,25 за 7 месяцев культивирования *in vitro*. Также нами показано, что первичные протокормы сохраняли свой морфогенетический потенциал даже после 12-ти месячного депонирования.

Работа выполнена при поддержке программы Президиума РАН «Живая природа».

РОСТ И РАСПРЕДЕЛЕНИЕ БИОМАССЫ ПО ОРГАНАМ САЖЕНЦЕВ БЕРЕЗЫ ПОВИСЛОЙ И ПУШИСТОЙ ПРИ РАЗНОМ УРОВНЕ АЗОТНОГО ПИТАНИЯ

Growth and distribution of biomass in organs of silver and downy birch saplings at different levels of nitrogen nutrition

Николаева Н.Н., Шуляковская Т.А., Запевалова Д.С., Воробьев В.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт леса Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия; nnnikol@krc.karelia.ru

На реализацию генетической программы развития каждого растения существенное влияние оказывает, в том числе, и уровень обеспеченности макроэлементами в течение жизни растения, особенно остро это проявляется на ранних этапах онтогенеза. В данном исследовании была поставлена задача оценить результат от внесения разных доз азота (N_{20}, N_{40}, N_{60}, где цифра обозначает дозу внесения в граммах по действующему веществу на одно растение за сезон) в виде аммиачной селитры и в составе комплексного удобрения (NPK) на рост 8-летних растений березы повислой (б.п. – 95 растений), ее экологической формы карельской березы (б.к. – 93 растения), березы пушистой (б.пуш. – 105 растений) и распределение биомассы по их органам.

Во всех вариантах обработок был отмечен положительный эффект на уровне среднего прироста по диаметру в основании стволиков и прироста в высоту, по сравнению с контролем у всех саженцев. Вместе с тем, на прирост в высоту саженцев б.к. наибольшее положительное влияние оказали дозы N_{40} и $N_{60,}$ тогда как дозы N_{40} и NPK способствовали максимальным радиальным приростам. По количеству силлептических побегов значения в группах берез были близки во всех вариантах, у растений б.к. максимум отмечен в $N_{40.}$ Средняя длина силлептического побега по группам и вариантам варьировала не значительно, максимум у б.п. и б.пуш. в варианте N_{40} и у б.к. в $N_{60.}$ Применение комплексного удобрения привело к количественному увеличению популяции ауксибластов во всех группах. Интересно отметить, что и суммарная длина всех ауксибластов у б.п. и б.к. была максимальна именно в варианте NPK, тогда как у б.пуш., несмотря на меньшее количество максимальная суммарная длина ауксибластов отмечена в варианте N_{60}. Возможно, отчасти это можно объяснить активным формированием генеративной сферы у б.пуш. в варианте NPK, что сдерживало здесь нарастание данных побегов в длину и здесь же отмечена максимальная доля (15%) силлептических побегов от общей массы побегов саженцев.

Масса корней и ствола составляла по 30-40% от общей биомассы у всех растений во всех вариантах обработки, исключая саженцы б.п., у которой в варианте NPK масса ствола составила 46%. Масса всех ветвей у опытных растений находилась в диапазоне 10-20% от общей биомассы. У б.к. и б.пуш. с увеличением дозы вносимых удобрений увеличивалась доля массы ветвей. В варианте N_{60} у б.к. более 60% от массы ветвей составили ауксибласты. Известно, что основная популяция почек формируется именно на ауксибластах и однолетних побегах. Данный факт вполне согласуется с наблюдением, что в варианте N_{60} у саженцев б.к. максимальный процент массы почек в общей биомассе растения, более 0,2%, что в два раза выше, чем в контроле. Несколько ниже у б.к. процент массы ауксибластов в варианте NPK (50%). Здесь мы отмечали максимальные количество данного типа побегов и значения его средней длины у б.к. Несмотря на это доля массы почек здесь была в три раза ниже, чем в N_{60}. Возможно, это объясняется перенаправлением доступных ресурсов преимущественно на текущий рост ауксибластов в длину и по диаметру, а также на увеличение радиального прироста ствола. У б.п. наибольшая масса ауксибластов отмечена в варианте N_{20} и здесь же, максимальная доля почек. С увеличением дозы азотных удобрений доля ауксибластов в массе побегов у б.п. понижалась, но возросла доля массы побегов второго года жизни. Видимо, доза N_{20}, стимулировала развитие побеговой системы текущего года у б.п., а дальнейшее увеличение доступного азота способствовало радиальному росту побегов, сформированных на год ранее.

Таким образом, было показано, что примененные дозы удобрений в год обработки оказали положительное влияние на прирост саженцев берез в высоту и по диаметру, но по-разному отразились на популяциях побегов растений. Внесение высоких доз азота (N_{60}) привело у березы пушистой к увеличению доли ауксибластов и почек в массе растения и способствовало развитию генеративной сферы, а у березы повислой (N_{40}, N_{60}) стимулировало радиальный рост побегов, сформированных в предыдущем году. Применение комплексного удобрения (NPK) привело к формированию максимального количества ауксибластов у растений березы пушистой, тогда как у саженцев березы повислой оно положительно сказалось на увеличении количества и длины ауксибластов, а соотношение массы надземной и подземной частей саженцев оставалось у них стабильным во всех вариантах. Растения карельской березы оказались наиболее восприимчивыми к изменению уровня азота и внесению комплекса макроэлементов. Повышенное количество азота (N_{20}, N_{40}) в почве расходуется в первую очередь на прирост растения в высоту и на увеличение количества побегов (силлептических), способствующих более полному охвату пространства. Дальнейшее повышение уровня азота (N_{60}) ведет к увеличению прироста ствола в высоту, развитию ауксибластов и к возрастанию массы почек. Внесение комплекса макроэлементов (NPK) способствует увеличению вложений в биомассу надземной части растений карельской березы за счет радиального прироста ствола, высокому проценту массы ауксибластов, их максимальным количеству и средней длине.

ОСОБЕННОСТИ БИОСИНТЕЗА ЛИГНИНА ПРИ ДЕЙСТВИИ КАДМИЯ В КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУРАХ ЧАЙНОГО РАСТЕНИЯ

The specificity of lignin biosynthesis in callus cultures of the tea plant underthe action of cadmium

Николаева Т.Н., Загоскина Н.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия; niktat2011@mail.ru

Одним из важнейших компонентов клеточных стенок растений является лигнин. Именно его формирование способствовало их выходу на сушу. Помимо опорной, лигнин в растениях выполняет также и защитную функцию, . В литературе имеются сведения об усилении степени лигнификации при действии различных неблагоприятных факторов, в том числе тяжелых металлов. К ним относится и кадмий, который принадлежит к одним из самых распространенных и опасных для растений и человека поллютантов.

Лигнин представляет собой сложный полимер фенольной природы, образующийся при участии О-метлтрансферазы (ОМТ; К.Ф. 2.1.1.6.), фермента, занимающего ключевое положение в его образовании. Используя S-аденозил-L-метионин в качестве донора метильных групп, ОМТ превращает кофейную и 5-гидроксиферуловую кислоты соответственно в феруловую (4-гидрокси-3-метоксикоричную) и синаповую (4-гидрокси-3,5-диметоксикоричную). При восстановлении последних образуются соответствующие спирты: конифериловый и синаповый, которые и служат непосредственными субстратами катализируемого пероксидазой процесса полимеризации лигниновых мономеров.

Литературные данные о том, что при действии тяжелых металлов на растения увеличивается степень лигнификации клеточных стенок немногочисленны, а о влиянии этого фактора на активность ОМТ – единичны. Для выяснения этих вопросов большие возможности открывает метод культуры *in vitro* , при котором клетки высших растений выращивают в строго контролируемых условиях, что позволяет «дозировать» экзогенные воздействия и изучать ответные реакции.

Целью нашего исследования являлось изучение изменений в накоплении лигнина и активности ОМТ в каллусных культурах чайного растения, подвергнутых действию кадмия.

Каллусные культуры стебля чайного растения (*Camellia sinensis* L., грузинская разновидность) выращивали в темноте на модифицированной питательной среде Хеллера, содержащей 2,4-дихлорфеноксиуксусную кислоту (5 мг/л) и глюкозу (25 г/л). В опытном варианте к питательной среде добавляли кадмий в концентрации $5x10^{-5}$ М (в виде нитрата кадмия). Продолжительность цикла культивирования составляла 7 недель. Анализы проводили на 12-ый , 26-ойи 40-ой дни от начала пассажа.

Определение активности ОМТ в «грубом» ферментном препарате, полученном из каллусов, проводили с использованием [метил-^{14}C]-S-аденозил-L-метионина (метил-^{14}C-SAM) в качестве донора метильных групп и кофейной кислоты в качестве субстрата (Запрометов, Николаева,2003). Содержание белка определяли по методу Брэдфорд. Активность ОМТ выражали в расп./мин мг белка. Содержание лигнина определяли спектрофотометрически после щелочного гидролиза свободного от экстрактивных веществ остатка по реакции с 2,6-дихлорхинонхлоримидом (длина волны 610 нм). Количество лигнина выражали в мг/г свободного от экстрактивных веществ остатка.

Установлено, что изменения в активности ОМТ в контрольном и опытном вариантах носили одинаковый характер: активность фермента уменьшалась от 12-го к 26-му дню роста культуры (на 20-25%), а к 40-му дню увеличивалась (на 80-100%). При этом в каллусах, выращиваемых на среде с кадмием, активность ОМТ во всех случаях была на 10-15% выше таковой контрольного варианта. Количество же лигнина в течение пассажа практически не изменялось в обоих вариантах, хотя его содержание в каллусах на среде с кадмием было на 10-15% выше, чем в контроле, также как и активность ОМТ.

Следовательно, при действии кадмия в клетках чайного растения активируется путь биосинтеза лигнина, что проявляется не только в накоплении лигнина, но и повышении уровня одного из основных ферментов этого пути – ОМТ.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант 14-04-01742).

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ БТШ ПРИ ДЕЙСТВИИ ВЫСОКИХ ТЕМПЕРАТУР НА ПРОРОСТКИ ПШЕНИЦЫ

HSPs genes expression of wheat seedlings during the high temperatures treatment

Нилова И.А., Топчиева Л.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия; im-ira@mail.ru

В условиях контролируемой среды изучали влияние высокой температуры на экспрессию генов БТШ у пшеницы. С этой целью, исследовали динамику теплоустойчивости недельных проростков озимой пшеницы *(Triticum aestivum L.)* сорта Московская 39 и экспрессию генов БТШ 70 и БТШ 19 в условиях действия температуры 33° и 37°С.

Полученные результаты показали, что теплоустойчивость проростков пшеницы при температуре 33°С достоверно повышается через сутки, а через двое суток она достигает максимума и в дальнейшем не изменяется. Под влиянием температуры 37°С теплоустойчивость повышалась уже через 1 час и затем в течение трех суток продолжала возрастать, достигая при этом значительно более высокого уровня, чем при 33°С.

Экспрессия гена БТШ 70 при 33° и 37°С имела сходную динамику: увеличение количества транскриптов уже через 15 минут от начала теплового воздействия, достижение максимального уровня через 1-2 часа, а затем снижение. Экспрессия гена БТШ 19 характеризовалась иной динамикой. В первые часы экспозиции при 33°С его экспрессия снижалась, через сутки отмечено ее усиление, а через трое суток - понижение до исходного уровня. При действии температуры 37°С через 30 минут от начала опыта было зафиксировано повышение уровня экспрессии данного гена, которое сохранялось неизменным в течение суток, а на 3-и сутки она снова усиливалась.

Таким образом, повышение теплоустойчивости, как при температуре 33°, так и при 37°С сопровождается изменением содержания транскритов генов БТШ 19 и БТШ 70. При этом, скорость формирования повышенной устойчивости и уровень экспрессии гена БТШ 19, при действии температуры 33°С оказались существенно ниже, чем при температуре 37°С, а накопление транскриптов БТШ 70 при этих температурах носило сходный характер. Следовательно, ответная реакция растений (даже одного вида) на действие высоких закаливающих температур носит многокомпонентный характер и в ней могут участвовать различные молекулярно-генетические механизмы, активность и соотносительный вклад которых в устойчивость могут варьировать в зависимости от интенсивности и продолжительности высокотемпературного воздействия.

ГЛУТАТИОНТРАНСФЕРАЗЫ ВАКУОЛЕЙ КАК ОДИН ИЗ ЭЛЕМЕНТОВ ВНУТРИВАКУОЛЯРНОЙ СИСТЕМЫ ДЕТОКСИКАЦИИ

Vacuolar glutathione transferase, as one of the elements of the vacuolar detoxification system

Нимаева О.Д., Прадедова Е.В., Саляев Р.К.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия; praded@sifibr.irk.ru

Глутатионтрансферазы (GST, КФ 2.5.1.18) являются неотъемлемыми компонентами детоксикационной защиты. Несмотря на то, что в клетках растений отмечают преимущественно цитозольную локализацию GST, на сегодня эти ферменты обнаружены в пластидах, митохондриях, апопласте и ядре. В вакуолях также выявлены GST, их наличие показано главным образом при помощи иммуноферментных методов и протеомного анализа. Мы предприняли попытку исследовать GST-активность в вакуолях с помощью спектрофотометрического и электрофоретического методов. Первоочередная задача состояла в сравнительном исследовании GST-активности фракций вакуолей и пластид, изолированных из клеток корнеплодов столовой свеклы (*Beta vulgaris* L.). Пластиды выбраны в качестве объекта для сравнения из-за того, что в пластидах некоторых растений GST не только были выявлены, но и частично охарактеризованы.

В результате проведенного исследования установили, что уровень активности GST был достаточно высоким как в водных экстрактах, так и мембранных фракциях изолированных вакуолей и пластид. Такие параметры, как pH-зависимость и чувствительность к ингибитору этакриновой кислоте (ЕА) у GST исследуемых органелл несколько различались, но в целом были близки по значениям. Заметные отличия наблюдали в субстратной специфичности. Как выяснилось, ЕА для GST вакуолей могла служить конкурентным ингибитором, поскольку фермент взаимодействовал с этим соединением как с субстратом. В то же время никакой ферментативной активности с ЕА для GST пластид выявить не удалось. Следует отметить, что ЕА является производным фенилуксусной кислоты, и по структуре своей подобна α-β-алкеналям, которые образуются в растительных клетках при окислительном стрессе. По всей видимости GST вакуолей способны распознавать α-β-алкенали как субстраты и участвовать в их метаболизме. Довольно сильно различалась активность GST вакуолей и пластид с гербицидом флуородифеном (FD). Активность у вакуолярных ферментов с FD была выше, чем у пластидных, в среднем в 10 раз. Взаимодействие с определенными соединениями является характеристикой отдельных изоформ GST, локализованных в разных клеточных структурах или экспрессирующихся в разных условиях. Очевидно, что пластидные ферменты отличались субстратной специфичностью от вакуолярных. Возможно, GST пластид выполняют специфичные функции, которые в меньшей степени связаны с интенсивной конъюгацией эндогенных и экзогенных токсичных соединений, таких α-β-алкенал и гербициды.

Изоферментный состав GST вакуолей также заметно отличался от состава пластид. Несколько зон GST-активности, наблюдаемые в геле после электрофореза белков, были характерны и для вакуолей и для пластид. Количество этих зон, которое соответствовало количеству изоформ фермента, изменялось в зависимости от используемого субстрата. В целом по результатам зимографического исследования можно говорить о 2 вакуолярных и 4 пластидных изоформах GST с разной субстратной специфичностью.

Полученные результаты позволяют сделать следующие выводы. Поскольку вакуоль обладает довольно высокой активностью GST, по всей видимости, она должна вносить значительный вклад в процессы внутриклеточной детоксикации. Само наличие ферментов GST-семейства указывает на то, что основная функция вакуоли не ограничивается только депонированием и деградацией конъюгатов глутатиона, которые перенаправляются в нее для изоляции и утилизации, как полагали ранее. Благодаря вакуолярным GST внутри вакуоли могут образовываться конъюгаты соединений эндогенного и экзогенного происхождения. Другая функция GST, локализованных в вакуоли, скорее всего, связана с антиоксидантной защитой, о чем косвенно свидетельствует слабая ассоциация ферментов с мембранами.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, грант № 14-44-04059 р_сибирь_а.

СОДЕРЖАНИЕ РАСТВОРИМЫХ УГЛЕВОДОВ И КРАХМАЛА У ГАЛОФИТОВ АРИДНОЙ ЗОНЫ РЕСПУБЛИКИ ТАДЖИКИСТАН

The content of soluble carbohydrates and starch in halophytes in arid zone of the Republic of Tajikistan

Ниязмухамедова М.Б.[1], Давлятова Д.М.[2], Бердыев Д.[2], Рахимов М.М.[1]

[1] *Институт ботаники, физиологии и генетики растений АН Республики Таджикистан, Душанбе, Республика Таджикистан; Mukadam.44@mail.ru*

[2] *Курган-тюбинский государственный университет им. Н. Хусрава, Курган-Тюбе, Республика Таджикистан*

В работе приводятся результаты анализа содержания растворимых углеводов и крахмала в процессе вегетации у галофитов, произрастающих в экстремальных условиях заповедника «Тигровая балка» (Таджикистане) с целью выявления их питательной ценности для использования в качестве кормов животным. Галофиты охотно поедаются скотом и являются для них чуть ли не единственными источниками кормов. В этой связи изучали содержание растворимых углеводов и крахмала у 4 видов растений галофитов: верблюжья колючка (*Alhagi canescens* Regel shop.ex Keller et Shop), тамарикс многоветвистый *(Tamarix ramosissima*), полынь ферганская (*Artemisia ferganensis* Krasch ex poljak), соляноколосник Белянже (*Halostach*ys Belangeriana Mog.Botsch), которые произрастают на всей территории заповедника. Эти растения хорошо приспособились к суровым условиям пустыни заповедника. Они по-разному поддерживают свой водный режим, обеспечивая осуществление нормального фотосинтеза и транспирации. Одни виды создают мощную корневую систему, достигающую грунтовых вод (верблюжья колючка), другие запасают в своих органах влагу и очень экономно расходуют ее (полынь ферганская), третьи сокращают транспирацию в жаркое время - скручивают листья (тамарикс многоветвистый), а соляноколосник Белянже имеет уникальное приспособление – редукцию листовых пластинок за счет изменения своей формы до цилиндрической. Изученные нами виды в процессе эволюции выработали адаптивность и устойчивость к высокой атмосферной и почвенной засухе. Оптимальная зона температуры у них очень широкая - от 15 до 400°С, что подчеркивает широкую экологическую пластичность растений в условиях пустыни.

Проведенный нами анализ показал, что листья и стебли всех четырех видов растений имели высокое содержание растворимых углеводов с ранней весны (начала вегетации) и до середины лета. К концу июня и до августа наблюдали некоторое уменьшение их содержания. Затем, к осени происходило небольшое повышение их содержания в этих органах, за счет влияния понижения температуры воздуха и почвы. В корнях содержание растворимых углеводов с апреля по июнь было относительно высоким, а начиная с середины лета до осени содержание и накопление их увеличилось почти в 2 раза. В цветках и плодах верблюжьей колючки было большое содержание растворимых углеводов.

У полыни ферганской самое большое содержание растворимых углеводов (7,85 мг/г. сыр. массы) наблюдалось в середине лета, а самое низкое (4,90 мг/г. сырой массы) было в августе. Соляноколосник белянже – солерос, приспособившись к условиям пустыни, имеет редуцированные листья темно-зеленого цвета. Стебли у него имеют форму прямоугольных тяжей. Эти растения синтезировали самое высокое содержание растворимых углеводов (4,28 мг/г сыр. массы) в конце сентября, а самое низкое (1,81 мг/г сыр. массы) - в конце июля. Тамарикс многоветвистый имел высокое содержание растворимых углеводов осенью (8,04 мг/г сыр. массы), а низкое содержание растворимых углеводов (5,9 мг/г сыр. массы) - в середине мая.

По содержанию крахмала было выявлено следующее: в начале вегетации –ранней весной, обилие влаги, благоприятная температура воздуха и почвы способствуют синтезу высокого содержания крахмала в листьях, стеблях и корнях, а в середине лета в самый разгар жары, содержание крахмала уменьшается. В конце вегетации в разных органах верблюжьей колючки содержание крахмала было минимально.

У верблюжьей колючки в конце августа наблюдали созревание плодов, в которых содержание крахмала колеблется от 12,46 мг/г сух. массы (в июле) до 9,99 мг/сух. массы (в сентябре). У полыни ферганской в листьях содержание крахмала остается почти на одном уровне до конца мая, а в стеблях и корнях имеет скачкообразные колебания. С середины лета содержание крахмала в стеблях и корнях уменьшается почти в 1,5-2 раза. У соляноколосника белянже к началу лета содержание крахмала уменьшается почти в 7 раз в листьях, в 5 раз в стеблях и в 3,5 раза в корнях. Соляноколосник весьма теплолюбив и достаточно светоустойчив, характеризуется сезонными изменениями интенсивности транспирации, вероятно поэтому происходят сезонные изменения динамики синтеза и накопления растворимых углеводов и крахмала У тамарикса многоветвистого в стеблях содержание крахмала было в 2-2,5 раза меньше, чем в листьях, а в корнях чуть превышало. Семена галофитов очень богаты крахмалом и сохраняют их до определенного времени, затем как правило, в течение нескольких часов рассыпаются, для возобновления нового цикла развития.

Таким образом благодаря тому что при высокой температуре воздуха и почвы галофиты имеют высокое содержание углеводов и крахмала до конца вегетации, они являются прекрасным кормом для животных.

ГАЗООБРАЗНЫЕ РЕГУЛЯТОРЫ РОСТА – КЛЮЧЕВЫЕ СИГНАЛЬНЫЕ МОЛЕКУЛЫ ОТВЕТА РАСТЕНИЙ НА СТРЕСС

Volatiles are key signaling molecules in plant stress response

Новикова Г.В., Мошков И.Е.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; gv.novikova@mail.ru

В настоящее время складывается представление о том, что газообразные («летучие») вещества – биологически активные молекулы, обладающие свойствами потенциальных внутриклеточных «индикаторов» стрессов различной природы. Газообразные («летучие») вещества могут образовываться в значимых количествах при нормальных условиях выращивания растений, однако их количество существенно возрастает, например, при механическом стрессе, или в местах проникновения патогенов. Самые подробно изученные «летучие» вещества растений – это, так называемые, «green leaf volatiles» (GLV), которые представляют собой C_6-альдегиды, спирты и их эфиры, образующиеся в ходе метаболизма оксилипинов. Перечисленные GLV производятся при повреждениях тканей растения и в ответ на биотические и абиотические стрессы. К перечисленным «летучим» веществам в качестве индикаторов стресса следует добавить и газообразный классический фитогормон этилен, который растения продуцируют на многих стадиях развития растительного организма, а также при стрессах.

В последней декаде прошедшего столетия существенно вырос интерес к изучению биологической роли оксида азота (NO). Сейчас выполнено большое количество работ, результаты которых позволяют утверждать, что NO – внутриклеточная сигнальная молекула, при помощи которой регулируются физиологические процессы не только при формировании защиты при биотическом и абиотическом стрессах, но и на всех этапах жизненного цикла растений. Действительно, NO вовлекается в защиту растений от бактериальных патогенов, например, *Pseudomonas syringae* и *Botrytis cinerea*. Таким образом, полученные данные стали основанием для предположения о том, что наряду с этиленом NO также может быть важным «летучим» индикатором стресса.

Между тем, имеются свидетельства того, что NO способен влиять и на продукцию этилена, и на передачу этиленового сигнала. Так, измерение продукции этилена и NO при созревании как климактерических, так и ортодоксальных плодов показало, что в ходе процесса созревания уровень NO снижался, тогда как биосинтез этилена возрастал. Сейчас эти наблюдения могут быть объяснены на молекулярном уровне. Известно, в результате работы цикла Янга образуется *S*-аденозилметионин, донирующий метильные группы, которые необходимы для продукции ряда метаболитов, включая этилен и полиамины. Показано, что NO-зависимое *S*-нитрозилирование аминокислотного остатка Цис114 в сайте активации метионин-аденозил-трансферазы1 (MAT1, At1g02500) ведет к снижению энзиматической активности MAT1, в результате чего продукция этилена падает. Однако этот лишь одно из возможных объяснений. Так, установлено, что и этилен, и NO могут генерироваться одновременно. У растений *Arabidopsis* при элиситации с проявлением реакции сверхчувствительности к бактериальному патогену *P. syringae* увеличивалась продукция обоих «летучих» веществ. Показано, что в инфильтрованных нитропруссидом натрия – донором NO^+ – листьях табака увеличивалась продукция этилена. Поскольку в листьях донор NO^+ способен индуцировать экспрессию *АЦК синтаз* (*ACS*), то это может быть одним из механизмов обеспечения роста продукции этилена. Более того, установлено, что в растениях табака, трансформированных геном *NOS* млекопитающих, во-первых, повышалась экспрессия *АЦК-оксидаз* (*ACO*), которые кодируют ферменты, превращающие АЦК в этилен. Во-вторых, наблюдался рост экспрессии генов, кодирующих ethylene-responsive element binding protein (EREBP). Белки этого семейства функционируют в качестве эффекторов пути передачи этиленового сигнала.

Ранее мы установили, что мономерные ГТФ-связывающие белки (малые ГТФазы) участвуют в передаче сигнала этилена. У растений дифференциальная активация NO малых ГТФаз ранее не изучалась, тогда как у животных такие NO-регулируемые малые ГТФазы имеются. Могут ли малые ГТФазы вовлекаться в передачу сигнала NO? Для ответа на этот вопрос мы занимались поиском малых ГТФаз, ГТФ-связывающая активность которых регулировалась в ответ на обработку донором NO^+ и/или этиленом. При помощи протеомного подхода мы показали, что в листьях растений *Arabidopsis thaliana* имеется группа малых ГТФаз, активируемых и этиленом, и NO. Вместе с тем, обнаружены малые ГТФазы, специфически активируемые каждым из изучаемых «летучих» веществ.

Наличие малых ГТФаз, регулируемых обоими газами, указывает, что пути передачи сигналов этилена и NO тесно связаны. Однако специфичность активации отдельных малых ГТФаз, скорее, свидетельствует об индивидуальной роли этих газов в качестве индикаторов различных стрессов.

ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ТЕМПЕРАТУРНЫХ ИНТЕРВАЛОВ ВЕГЕТАЦИИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР В УСЛОВИЯХ ИЗМЕНЕНИЯ КЛИМАТА

Duration of temperature intervals of cultivated crops vegetation under climate change conditions

Новикова Л.Ю.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства имени Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия; novikova@vir.nw.ru

В связи с потеплением климата и перспективами продвижения многих культур в северные регионы актуальной является оценка соответствия требований культур и сортов нетрадиционным условиям, моделирование и прогнозирование зависимостей хозяйственно ценных признаков от климатических факторов. В агроклиматологии наиболее распространенной характеристикой потребностей сельскохозяйственных растений является оценка сумм суточных температур, необходимых для завершения вегетации. Кроме того, оценивается биологический минимум температуры начала роста и созревания. Например, для начала роста пшеницы, овса, ячменя, льна принята температура 5°С, созревания 10°С; для сои 10°С как для прорастания, так и созревания; для картофеля и капусты минимальные температуры не установлены, для винограда 10 и 15°С соответственно. Более точный подход заключается в определении диапазона оптимальных границ жизненных факторов для каждого межфазного периода развития растений. Особое значение в условиях России имеет определение температурных зон оптимума, адаптации, летальной, границы которых параллельны годовому ходу температур, к которому наиболее адаптирован сорт.

В работе подводятся итоги серии исследований по выявлению климатических факторов, определяющих тренды продолжительности вегетации ряда культур в условиях современных климатических изменений. Факторы были выявлены методом регрессионного анализа многолетних наблюдений на пяти опытных станциях ВИР им. Н.И. Вавилова, расположенных в контрастных климатических условиях европейской части России, и на виноградниках ВНИИ виноградарства и виноделия им. Я.И. Потапенко (Ростовская обл.). Во всех исследованных пунктах с 1980 г. увеличивались продолжительность периода с температурами, превышающими 5°С, 10°С, 15°С; суммы температур и осадков за эти периоды, за исключением ВНИИВиВ (г. Новочеркасск), где увеличения осадков не наблюдалось. Показано, что сорта яровой пшеницы, овса, ячменя, льна, районированные в середине – последней трети XX века, в различных пунктах сокращают продолжительность вегетации под влиянием роста температур. Наиболее значимым фактором оказался рост сумм температур выше 15°С, частично компенсированный ростом продолжительности периода с температурами от 10 до 15°С весной – в начале лета и ростом осадков. Для картофеля в Мурманской обл. показано сокращение периода от посадки до цветения и увеличение от цветения до уборки, вызванные ростом сумм температур выше 15°С. Выявлено сокращение периода всходы – начало хозяйственной годности у пяти сортов капусты, вызванное ростом сумм температур выше 15°С и осадков за период с температурами выше 15°С. Показано сокращение периода от начала распускания почек до полного созревания ягод у всех 23 исследованных сортов винограда (Наумова, Новикова, 2014), вызванное ростом сумм температур выше 20°С, межгодовая изменчивость данного периода положительно связана с продолжительностью периода с температурами от 10 до 15°С весной – в начале лета. Продолжительность вегетации сои в Краснодарском крае не имела устойчивой тенденции, сокращалась в годы с большей суммой температур выше 15°С, и большей продолжительностью периода между датами устойчивого перехода через 15 и 10°С осенью и увеличивалась в годы с большей суммой осадков за период с температурами выше 15°С. Для ряда культур были рассчитаны суммы температур за межфазные периоды и вегетацию; определены температурные минимумы отдельных сортов. Для ряда образцов сои при анализе опытов с учащенными посевами показано достижение верхней границы зоны оптимальных температур на стадии прорастания. Наши расчеты показали зависимость сумм температур за вегетацию от условий увлажнения там, где выявлена зависимость продолжительности вегетации от сумм осадков.

Таким образом, показано, что продолжительность вегетации исследованных культур зависит от характеристик двух температурных интервалов: положительно от длительности периода с температурами 10-15°С весной – в начале лета, для сои и осенью, и отрицательно от сумм температур выше 15°С (для винограда – выше 20°С). На темп развития в более южных областях влияет обеспеченность влагой. Полученная закономерность соотносится с представлением о сезонной зависимости температурных зон жизненного цикла растений. Продолжительность периода с температурами от 10 до 15°С весной – в начале лета показала тенденцию к увеличению во всех изученных пунктах, кроме ВНИИВиВ в Ростовской обл. где тенденция недостоверная, отрицательная); в конце лета-осенью – к сокращению везде, кроме Мурманской обл. На основе построенных регрессионных моделей сделаны климатически обусловленные прогнозы продолжительности вегетации в случае продолжения наблюдающихся тенденций изменения тепловлагообеспеченности, все прогнозы отрицательны. Температуры 10-15°С весной благоприятны для ростовых процессов, поэтому в качестве меры адаптации к изменениям климата может быть предложен по возможности более ранний посев и исследование возможностей более позднеспелых сортов.

АНАЛИЗ УСТОЙЧИВОСТИ К ЗАСУХЕ РАЗЛИЧНЫХ ГЕНОТИПОВ ГОРОХА *(PISUM SATIVUM L.)*

Analysis of drought resistance of different genotypes of peas *(Pisum sativum* L.)

Новикова Н.Е.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Орловский государственный аграрный университет, Орел, Россия; novik302@mail.ru

Селекция гороха посевного *(Pisum sativum* L.) базируется в настоящее время на широком использовании генных мутаций. Большая часть современных сортов имеет один или несколько мутантных признаков. Создание сортов усатого (безлисточкового) морфологического типа стало решающим для повышения технологичности выращивания гороха, который в силу своего происхождения был недостаточно приспособлен для выращивания в чистых посевах из-за высокой полегаемости растений.

Однако трансформация листочков в усики и уменьшение в этой связи листовой поверхности привели к изменению ряда показателей, связанных с засухоустойчивостью растений. Не подвергается сомнению, что лист играет главную роль в процессах фотосинтеза, транспирации, в сенсорных реакциях растений. В ходе многовековой эволюции он сформировал оптимальную структуру для выполнения этих функций, поэтому генетически обусловленное вмешательство влечет изменение функционального состояния листа и целого растения. Примечательно, что на этапе прорастания семян устойчивость к водному дефициту у усатых и листочковых сортов, определенная по способности их прорастать на гипертоническом растворе сахарозы, не имела различий. Но различия становятся явными на последующих этапах развития растений.

По данным многолетних исследований, установлено, что уменьшение листовой поверхности у усатых сортов вызвало коррелятивное ослабление мощности корневой системы. Масса и объем корней у исследованных сортов усатого морфотипа была меньше, чем у листочковых на 10–28%, площадь поглощающей поверхности – на 13–35%, протяженность корней – на 16–40%. Одновременно увеличилась функциональная нагрузка на корень. В расчете на единицу его поверхности приходилось в 1,5 раза больше поглощенного азота и фосфора. При благоприятных условиях высокая интенсивность поглощения может в полной мере обеспечить поступление элементов питания, но в условиях засухи уязвимость растений усатого морфотипа может увеличиваться.

Трансформирование листочков в усики сопровождалось изменениями в водном обмене листа. По морфологии и анатомии усики близки к осевым органам, значительную часть которых занимает насыщенная легко подвижной водой проводящая система. Это оказывает влияние на водный режим листа и растения. Установлено, что усики по сравнению с листочками имеют более высокий водный потенциал, пониженное содержание связанной воды в его общем фонде (на 11%), меньшее число устьиц на 1 мм^2 поверхности (в 1,9-3,5 раза), меньшую интенсивность транспирации (в 2,5 раза). Растения гороха листочкового морфотипа способны более эффективно поддерживать гомеостатичность водного обмена благодаря большему количеству прочно связанной воды и меньшей ее активности.

Установлены существенные различия в антиоксидантной системе обычного и усатого листа. По активности пероксидазы и каталазы усики уступали листочкам в 1,1–1,6 раза, по содержанию аскорбиновой кислоты – в 1,1–2,1 раза, каротиноидов – в 1,3 раза.

В связи с этими изменениями усатые сорта в засушливые годы более значительно снижали урожайность по сравнению с листочковыми. Возможные пути повышения засухоустойчивости усатых сортов заключаются в создании генотипов с крупными прилистниками и прицветничками для увеличения листовой поверхности, поиске в генофонде гороха образцов усатого типа с улучшенными показателями корневой системы и водного обмена и вовлечение их в селекционный процесс.

РОЛЬ ФЕНОТИПИЧЕСКОЙ ПЛАСТИЧНОСТИ ПРИ АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ МУССОННОГО ТРОПИЧЕСКОГО ЛЕСА К ИЗМЕНЕНИЮ УСЛОВИЙ ОСВЕЩЕННОСТИ

The role of phenotypic plasticity in the adaptation of plants in the monsoon rainforest to changing lighting conditions

Новичонок Е.В.[1], Марковская Е.Ф.[2]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт леса Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия; enovichonok@inbox.ru*

[2] *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Петрозаводский государственный университет», Петрозаводск, Россия, volev10@mail.ru*

В настоящее время большое внимание исследователей направлено на выявление механизмов, позволяющих растениям адаптироваться к изменению условий окружающей среды. Одним из наиболее важных абиотических факторов, влияющих на рост и развитие растений, а также поддерживающим структуру растительных сообществ, является свет. Однако в лесных сообществах естественные процессы и антропогенное вмешательство приводят к образованию лесных «окон», в которых наблюдается резкое изменение режима освещенности. В случае неспособности растений адаптироваться к повышенной освещенности эти процессы могут привести к изменению структуры и видового состава сообщества. Особенно актуальна эта проблема в муссонных тропических лесах, так как в них растения подлеска и подроста эволюционно адаптированы к условиям очень низкой освещенности, а большое видовое разнообразие создает сложную структуру функционального взаимодействия, которая изменяется при любых воздействиях, как естественных, так и антропогенных. К одним из механизмов, позволяющих растениям адаптироваться к условиям освещенности, относится фенотипическая пластичность растений. Однако до настоящего времени нет четкого понимания роли фенотипической пластичности отдельных видов в сукцессионных процессах и при адаптации растений к факторам среды.

Целью нашей работы явилось определение степени фенотипической пластичности к свету параметров листовой пластинки растений подлеска и подроста в муссонном тропическом лесу (южный Вьетнам). Степень пластичности была изучена по содержанию фотосинтетических пигментов и их соотношениям, биохимическим (содержание азота, фосфора и калия) и морфологическим (длина, ширина, площадь, степень вытянутости листовой пластинки, содержание сухого вещества, удельная листовая поверхность) признакам. Для исследования было взято 16 видов растений, разных жизненных форм, занимающих разное место в высотном градиенте сообщества (подрост верхнего и среднего древесного подъярусов, растения подлеска и лианы). Исследованные растения произрастали в местах с низкой освещенностью (ненарушенным лесным покровом, степень сомкнутости полога в среднем составила 80,3%) и в местах с высокой степенью доступности света (участки леса с нарушенным лесным покровом, разреженным пологом, степень сомкнутости в среднем составила 38,8%).

Нами было показано, что большая часть изменчивости изученных показателей фотосинтетического аппарата может быть объяснена видовыми различиями (в среднем 79%). Влияние уровня освещенности было значительно ниже – около 6%. При этом освещенность, несмотря на широкий диапазон варьирования, оказывала достоверное влияние только на 9 из 24 изученных показателей. Эти данные позволили предположить, что каждый из исследованных видов имеет собственные эндогенные пути адаптации к уровню освещенности и эти пути различаются, что обеспечивает разный уровень исследуемых морфо-физиологических показателей листа. Возможно, именно эти различия обеспечивают существование большого видового разнообразия при произрастании в сходных условиях подлеска в биоценозе муссонного тропического леса. Анализ средней степени пластичности по всем изученным показателям листа у отдельных видов растений показал, что у большинства изученных видов степень пластичности была низкая и варьировала от 11,1 до 24,2%. Возможно, такая низкая степень пластичности позволяет разным видам растений занимать определенную узкую экологическую нишу, снижает риски, связанные с большими энергетическими затратами на поддержание пластичности, и обеспечивает успешное существование растений при низкой доступности ресурсов. Однако все эти особенности приводят к тому, что большинство видов растений муссонного тропического леса не способны в полной мере приспосабливаться к изменениям факторов среды, вызванных естественными и антропогенными нарушениями лесного покрова и связанных, в первую очередь, с увеличением освещенности. Отмеченные особенности, по-видимому, являются одной из системных составляющих, обеспечивающих успешность функционирования тропического муссонного леса и их сильную уязвимость к антропогенным нарушениям.

СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ ОБЩИХ ЛИПИДОВ В ЛИСТЬЯХ ОДНО- И МНОГОЛЕТНИХ ТРАВЯНИСТЫХ РАСТЕНИЙ КРИОЛИТОЗОНЫ

Seasonal dynamics of total lipid content in the leaves of annual and perennial herbaceous plants in cryolithozone

Нохсоров В.В.[1], Дударева Л.В.[2], Чепалов В.А.[3], Перк А.А.[3], Петров К.А.[3]

[1] *ФГАОУ ВПО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова», Якутск, Республика Саха (Якутия), Россия*
[2] *ФГБУН Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия*
[3] *ФГБУН Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск, Республика Саха (Якутия), Россия; kap_75@bk.ru*

Изучали сезонные изменения количественного содержания общих липидов (ОЛ) у 2-х видов злаковых растений Якутии: *Avena sativa* L. (овес посевной) и *Bromopsis inermis* Leyss. (кострец безостый). Данные растения являются одними из немногих видов, культивируемых в местных условиях на кормовые цели (зерно, зеленая масса). Предполагается, что их высокие кормовые свойства связаны со значительным накоплением ОЛ при холодовом закаливании низкими положительными температурами осеннего периода в Центральной Якутии.

Однолетний овес посевной и многолетний кострец безостый выращивали на опытном участке (2013-2014 гг.), расположенном на средней пойме р. Лена (Центрально-Якутский флористический район, окрестности г. Якутска, 62˚с.ш. и 130˚в.д.). Схема опыта строилась с таким расчетом, чтобы растения подвергались естественному холодовому закаливанию во второй половине сентября. С этой целью посев части семян многолетнего растения костреца безостого произвели в конце мая – начале июля. Летом для стимулирования закладки молодых побегов в начале фазы трубкования часть растений срезали на высоте 4-5 см от уровня земли. Остальные растения служили контрольными вариантами. Овес полевой сеяли в поздние сроки (в середине июля), значительно сдвинутые относительно стандартного срока, принятого в Центральной Якутии (конец мая – начало июня). Листья летневегетирующих и замороженных в начале октября естественным холодом обоих видов растений служили контрольными и опытными вариантами соответственно. Зеленые части (листья) растений двух сроков сева – стандартного (31.05) и позднего (15.07) собирали в первом случае с 07.07 по 11.09, а во втором – с 25.07 по 30.09 (начало установления снежного покрова). Листья злаков фиксировали жидким азотом с последующей лиофилизацией (VirTis, США). Экстракцию липидов проводили по модифицированному методу Smolenska at al. (1977). Количество ОЛ определяли в лиофильно высушенных листьях до постоянного веса аликвот экстракта.

С увеличением возраста растений в листьях *A. sativa* летнего посева (31.05) в период 07.07 по 25.07 шло постепенное накопление ОЛ, которое менялось от 98,9 до 129,3 мг/г сух. массы. С августа по сентябрь уровень ОЛ снижался. Вместе с тем, второй срок сева (15.07) способствовал более высокому содержанию ОЛ в листьях *A. sativa* (от 128,2 до 155 мг/г сух. массы). В дальнейшем количество ОЛ повышалось до конца сентября (30.09), когда средняя температура воздуха становилась отрицательной.

В летнее время (06.06-18.08) у многолетнего злака *B. inermis* в вариантах без срезки надземной части отмечалось низкое содержание ОЛ (от 25,8 до 75,5 мг/г сух. массы) по сравнению с отавой. Во всех осенневегетирующих побегах костреца безостого, отрастающих после срезки растений, начиная с последней декады августа по мере закаливания *B. inermis* к низким температурам, наблюдали значительное увеличение ОЛ, содержание которых варьировало в пределах от 93,3 до 136,8 мг/г сух. массы. Полученные результаты дают основания полагать, что сезонное повышение содержания ОЛ в листьях *B. inermis* и *A. sativa* обусловлено холодовым закаливанием низкими положительными температурами.

СОДЕРЖАНИЕ ОБЩИХ ЛИПИДОВ В ХВОЕ И ПОЧКАХ ДРЕВЕСНО-КУСТАРНИКОВЫХ РАСТЕНИЙ ЯКУТИИ

The content of total lipids in the needles and buds of trees and shrubs in Yakutia

Нохсоров В.В.[1], Дударева Л.В.[2], Чепалов В.А.[3], Перк А.А.[3], Петров К.А.[3]

ФГАОУ ВПО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова», Якутск, Республика Саха (Якутия), Россия

[2] *ФГБУН Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия*

[3] *ФГБУН Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск, Республика Саха (Якутия), Россия; kap_ 75@bk.ru*

Одним из возможных механизмов выживания древесных растений при экстремально низких температурах в условиях криолитозоны Якутии является накопление ими в предзимний период энергетически емких веществ, первую роль среди которых играют липиды. Высокий уровень липидов у местных растений позволяет им не только сохранять высокий уровень морозоустойчивости в зимний период за счет поддержания оптимальной состояния клеточных мембран, но и при выходе из вынужденного покоя за счет быстрого метаболизма запасных липидов ускоренно переходить в фазу роста и развития, переводя эти вещества в жизненно необходимые соединения до того, как фотосинтетическая активность достигнет оптимальных значений. В этой связи нами были изучены сезонные изменения количественного содержания общих липидов (ОЛ) в органах некоторых видов древесно-кустарниковых растений Якутии: хвоя сосны обыкновенной *(Pinus sylvestris L.)* и ели сибирской *(Picea obovata* Lebed.) - основных вечнозеленых хвойных пород Якутии, относящихся к семейству Сосновых *(Pinaceae)* и почки березы плосколистной *(Betula platyphylla* Sukacz.) и ольхи кустарниковой *(Alnus fruticosa* (Rupr.) Nyman) - представителей семейства Березовых *(Betulaceae)*.

Двухлетнюю хвою сосны, ели, а также почки березы и ольхи кустарниковой собирали летом (29.07 и 05.08), осенью (20.09) и зимой (09.12, только у сосны и ели) 2010-2014 гг. у средневозрастных деревьев, произрастающих на лесных участках, прилегающих к Ботаническому саду ИБПК СО РАН. Хвою и почки растений фиксировали жидким азотом с последующей лиофилизацией (VirTis, США). Экстракцию липидов проводили по модифицированному методу Smolenska at al. (1977). Количество ОЛ определяли в лиофильно высушенных листьях до постоянного веса аликвот экстракта.

Во все сезоны содержание ОЛ в хвое сосны было выше, чем в хвое ели (в среднем в 1,5 раза), причем наибольшая разница между растениями наблюдалась в августовских пробах (в 1,6 раза). Общий тренд содержания ОЛ в хвое у обоих видов хвойных пород имел тенденцию к возрастанию от лета к осени и зиме. С увеличением возраста хвои *P. sylvestris* в ней отмечалось накопление ОЛ от 211,7±1,5 (июль) до 314,5±2,5 (декабрь) мг/г сух. массы, т.е. в 1,5 раза. Относительное накопление ОЛ в хвое ели *P. obovata* было несколько меньшее (в 1,4 раза), изменяясь от 145,8±1,4 (июль) до 204,9±2,3 (декабрь) мг/г сух. массы. Уже в сентябре, при достижении отрицательных температур воздуха, уровень ОЛ в фотосинтезирующих органах увеличился по сравнению с летними месяцами в среднем в 1,3 раза.

В почках изученных лиственных видов содержание ОЛ было близко к его величинам в хвое сосны и ели. При этом почки ольхи кустарниковой характеризовались в целом большим уровнем ОЛ, чем почки березы. Разница между этими видами по содержанию ОЛ, в зависимости от месяца, достигала 1,1-1,3 раза, причем она несколько сглаживалась к осени. Динамика содержания ОЛ у лиственных растений была в целом сходной с динамикой хвойных видов. Несмотря на то, что в начале августа (05.08) в почках этих растений отмечалось некоторое падение уровня ОЛ по сравнению с концом июля (от 180,3 ±1,2 и 233,3±1,1 мг/г сух. массы до 165,4±1,7 и 204,5±1,1 мг/г сух. массы для березы и ольхи, соответственно) к осени (20.09) содержание ОЛ достигло максимально зафиксированных величин (266,4±1,0 и 281,2 ± 1,0 мг/г сух. массы, соответственно).

Таким образом, по мере подготовки растений к зимнему покою, прохождению ими первой и второй фаз закаливания, в хвое и почках изученных растений Якутии происходит значительное увеличение содержания ОЛ. Это можно связать с необходимостью формирования высокой степени морозоустойчивости растений криолитозоны, зимующих в условиях экстремально низких температур, а также для их последующего быстрого перехода от вынужденного покоя к летней вегетации.

ФОСФОЛИПИДЫ И ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ У ОДНО- И МНОГОЛЕТНИХ ТРАВЯНИСТЫХ РАСТЕНИЙ КРИОЛИТОЗОНЫ

Phospholipids and fatty acids in annual and perennial herbaceous plants in cryolithozone

Нохсоров В.В.[1], Дударева Л.В.[2], Чепалов В.А.[3], Перк А.А.[3], Петров К.А.[3]

[1] *ФГАОУ ВПО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова», Якутск, Республика Саха (Якутия), Россия*

[2] *ФГБУН Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия*

[3] *ФГБУН Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск, Республика Саха (Якутия), Россия; kap_75@bk.ru*

Со времени выдвижения гипотезы об адаптационной роли мембранных липидов появилось значительное количество данных, подтверждающих важность поддержания оптимального соотношения между насыщенными и ненасыщенными жирными кислотами (ЖК) и фосфолипидным составом (ФЛ) у животных, растений и бактерий при формировании устойчивости к стресс-факторам. Низкие температуры являются основным, лимитирующим существование видов в регионах с экстремальными зимними морозами, фактором.

Целью настоящей работы являлось изучение состояния ФЛ и ЖК липидов у одно- и многолетних травянистых растений в течение летнего и осенне-зимнего периодов в условиях Центрально-Якутского флористического района. Объектами служили однолетний овес посевной (*Avena sativa* L.) и многолетний кострец безостый (*Bromopsis inermis* Leyss.). Растения овса позднелетнего посева (15-17 июля 2009 г.) и костреца собирали на территории Центральной Якутии (62°с.ш., 130°в.д.) летом и осенью. Осенневегетирующие злаки, подвергаясь закаливанию, уходили под снег в зеленом состоянии, консервировались, превращаясь в криокорм.

Экстракцию липидов проводили по модифицированному методу Smolenska at al. (1977), количественное определение содержания фосфолипидов – по методу Vaskovsky et al. (1975), анализ полученных метиловых эфиров ЖК – методом газожидкостной хроматографии с использованием хромато-масс-спектрометра 5973/6890N MSD/DS (Agilent Technologies, USA).

В результате исследования индивидуального состава ФЛ овса посевного и костреца безостого были выявлены следующие ФЛ: фосфатидилхолин (ФХ), фосфатидилинозит (ФИ), фосфатидилэтаноламин (ФЭ), фосфатидилглицерин (ФГ), фосфатидная кислота (ФК) и дифосфатидилглицерин (ДФГ). Все обнаруженные ФЛ характеризовались индивидуальной динамикой содержания в течении исследуемого периода. Результаты анализа показали, что основной группой ФЛ в листьях злаковых являлись ФХ, причем их содержание в листьях многолетнего костреца безостого было выше, чем у овса посевного. Осенью, в период наступления низких положительных температур, количество ФХ увеличивалась в листьях овса на 391,1%, у костреца – на 362,3% по сравнению с летними показателями. Осеннее похолодание в листьях одно- и многолетних травянистых растений Якутии сопровождается активным биосинтезом различных ФЛ.

Исследование жирнокислотного состава овса посевного и костреца безостого, собранных во время вегетации и в период отмирания надземных органов выявило 13 и 17 типов ЖК, соответственно, т.е. ткани многолетнего злака имели более разнообразный жирнокислотный состав. По всей вероятности это связано с адаптационными особенностями многолетников, необходимостью перед зимним покоем продлить фотосинтез, чтобы успеть сформировать запасающие подземные органы. Вместе с тем, общее массовое содержание ЖК было существенно выше у *A. sativa* – в 1,58 раза по сравнению с *B. inermis*. Более половины суммы всех ЖК составляла полиненасыщенная линоленовая кислота, затем насыщенная пальмитиновая.

Таким образом, найденные у разных видов одно- и многолетних травянистых растений криолитозоны особенности сезонных изменений баланса ЖК определяются их жизненными формами и адаптационными стратегиями. Замороженные естественным холодом травы в виду большого содержания в них ФЛ и ЖК липидов служат хорошим нажировочным кормом для многих видов животных, ведущих активный образ жизни зимой в условиях экстремально холодного климата Якутии.

ОСОБЕННОСТИ СЕЗОННОЙ ДИНАМИКИ СОДЕРЖАНИЯ ФОСФОЛИПИДОВ И ЖИРНЫХ КИСЛОТ У ХВОЩЕЙ ПОЛЮСА ХОЛОДА (ЯКУТИЯ)

Features of seasonal dynamics of phospholipids and fatty acids content in horsetails in the Pole of Cold (Yakutia)

Нохсоров В.В.[1], Дударева Л.В.[2], Чепалов В.А.[3], Перк А.А.[3], Петров К.А.[3]

[1] *ФГАОУ ВПО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова», Якутск, Республика Саха (Якутия), Россия*

[2] *ФГБУН Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия*

[3] *ФГБУН Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск, Республика Саха (Якутия), Россия; kap_75@bk.ru*

Изучали сезонные изменения содержания фосфолипидов (ФЛ) и жирных кислот (ЖК) общих липидов у двух видов хвощей - пестрого (*Equisetum variegatum* Schleich. Ex Web) и камышкового (*E. scirpoides* Michx.) – зимнезеленых нажировочных растений с высокой кормовой ценностью, произрастающих в Северо-Восточной Якутии. Экстракцию липидов проводили по модифицированному методу Smolenska at al. (1977). Количественное определение содержания фосфолипидов проводили по методу Vaskovsky et al. (1975). Анализ полученных метиловых эфиров ЖК проводили методом газожидкостной хроматографии с использованием хромато-масс-спектрометра 5973/6890N MSD/DS (Agilent Technologies, USA).

С помощью метода ТСХ в побегах *E. variegatum* и *E. scirpoides* были идентифицированы следующие ФЛ: фосфатидилхолин (ФХ), фосфатидилинозит (ФИ), фосфатидилэтаноламин (ФЭ), фосфатидилглицерин (ФГ), фосфатидная кислота (ФК) и дифосфатидилглицерин (ДФГ). В летних побегах *E. variegatum* и *E. scirpoides* было выявлено относительно низкое содержание ФЛ (155,8 и 241,4 мкг/г сух. массы, соответственно) в отличие от осенних образцов (239,4 и 262,6 мкг/г сух. массы, соответственно). Осенью содержание ФХ, ФИ и ФЭ в тканях хвоща пестрого по сравнению с летними показателями повышалось на 72,6%, 64,1% и 99,3%, соответственно. К этому же времени помимо ФХ, ФИ и ФЭ в побегах хвоща камышкового накопление ДФГ также заметно усиливалось (на 147,2%).

Полиеновые ЖК представлены диеновыми, триеновыми и тетраеновыми кислотами -12, -15 и -5 ряда. Основной триеновый кислотой у хвощей была α-линоленовая кислота. Ее содержание для *E. variegatum* и *E. scirpoides* составило соответственно 25,2±1,9% и 31,4±2,4% от суммы кислот. Кроме нее у исследованных растений обнаружена триеновая С20:3 (11,14,17) кислота, известный предшественник в биосинтезе юниперороновой С20:4 (5,11,14,17) кислоты, также присутствующей в тканях хвощей.

Осенние липиды *E. variegatum* по содержанию ЖК существенно отличались от летневегетирующих растений. Если летом идентифицировалось 18 индивидуальных ЖК, то осенью – 15 ЖК. Наиболее интересным является увеличение к осени относительного содержания олеиновой С18:1 на 6,1%, линолевой С18:2 – в 2,1 раза, эйкозаеновой С20:1 – 4,2 раза, эйкозатриеновой С20:3(5,11,14) – 3,2 раза и эйкозатетраеновой С20:4(5,11,14,17) – на 5,9% от суммы ЖК по сравнению с летними побегами.

Качественный состав ЖК липидов летневегетирующих побегов *E. scirpoides* довольно сильно отличался от осенневегетирующих растений. Если летом идентифицировалось 11 индивидуальных ЖК, то осенью – 16 ЖК. Из насыщенных ЖК в составе липидов основными были пальмитиновая – 31,3±2,6% и стеариновая С18:0 – 1,8±0,3% кислоты. При переходе к периоду холодового закаливания содержание пальмитиновой кислоты С16:0 уменьшилось относительно летнего на 29,3%. Относительное содержание суммы насыщенных ЖК в летний период составляло 34,7±3,1% и уменьшилось до 30,2±3,8% осенью. Выросло содержание стеариновой С18:0 в 2,9 раза, олеиновой С18:1 – в 1,9 раза, линолевой С18:2 – на 24,8%, эйкозановой С20:0 – в 3,4 раза, эйкозатриеновой С20:3(5,11,14) – в 8,6 раза и эйкозатетраеновой кислот С20:4(5,11,14,17) – на 17,7% по сравнению с летними побегами от суммы ЖК. В осенневегетирующих побегах *E. scirpoides* обнаружены новые минорные ЖК: насыщенные – С12:0, С15:0, С22:0; ненасыщенные – С16:2 и С16:3. Их содержание варьировало от 0,3 до 2,6% от суммы ЖК. Интересным также является присутствие в побегах хвощей высоконенасыщенной 5,11,14,17-эйкозатетраеновой кислоты. Четыре ненасыщенные связи в этой жирной кислоте могут существенно повышать устойчивость растительных тканей к низким температурам в условиях Полюса холода Якутии.

СОДЕРЖАНИЕ ФОСФОЛИПИДОВ И ЖИРНЫХ КИСЛОТ В ХВОЕ И ПОЧКАХ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ ЯКУТИИ

The content of phospholipids and fatty acids in the needles and buds of woody plants in Yakutia

Нохсоров В.В.[1], Дударева Л.В.[2], Чепалов В.А.[3], Перк А.А.[3], Петров К.А.[3]

[1] *ФГАОУ ВПО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова», Якутск, Республика Саха (Якутия), Россия*

[2] *ФГБУН Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия*

[3] *ФГБУН Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск, Республика Саха (Якутия), Россия; kap_75@bk.ru*

Для древесных растений Якутии выживание при экстремально низких температурах среди прочего обусловлено поддержанием оптимальной физиологической активности клеточных мембран, что зависит от особенностей их фосфолипидного (ФЛ) и жирнокислотного (ЖК) состава. Имеются данные о способности генетически модифицированных организмов (мутантов по генам десатураз) лучше адаптироваться к температурному стрессу (Лось, 2014). В связи с этим, особый интерес может представлять изучение сезонных изменений качественного и количественного состава ФЛ и ЖК в хвое *Pinus sylvestris* L., *Picea obovata* Lebed. – основных вечнозеленых хвойных пород и в почках *Betula platyphylla* Sukacz. в условиях криолитозоны.

Двухлетнюю хвою сосны, ели и почки березы собирали летом (23.08), осенью (15.09) и зимой (10.12) 2010-2014 гг. у средневозрастных деревьев, произрастающих на лесных участках, прилегающих к Ботаническому саду ИБПК СО РАН. Экстракцию липидов проводили по модифицированному методу Smolenska at al. (1977). Количественное определение содержания фосфолипидов проводили по методу Vaskovsky et al. (1975). Анализ полученных метиловых эфиров ЖК проводили методом газожидкостной хроматографии с использованием хромато-масс-спектрометра 5973/6890N MSD/DS (Agilent Technologies, USA).

В результате определения индивидуального состава ФЛ в хвое сосны обыкновенной, ели сибирской и в почках березы плосколистной были идентифицированы: фосфатидилхолин (ФХ), фосфатидилинозит (ФИ), фосфатидилэтаноламин (ФЭ), фосфатидилглицерин (ФГ), фосфатидная кислота (ФК) и дифосфатидилглицерин (ДФГ). Все обнаруженные ФЛ характеризовались индивидуальной динамикой содержания в течении исследуемого периода. Результаты исследований показали, что основной группой ФЛ в хвое хвойных и в почках березы в течении исследуемого периода являлись ФХ, причем их содержание в хвое сосны было выше, чем у ели и березы. Осенью, когда ростовые процессы завершаются, количество ФХ увеличивается в хвое сосны на 124,4%, ели – на 45,3% и в почках березы – на 136,2% по сравнению с летними показателями. Таким образом, формирование криорезистентности живых тканей хвои сосны, ели и почек березы сопровождается активным биосинтезом ФЛ.

Всего в изученных образцах сосны было выявлено 21 ЖК, ели – 23 ЖК, березы – 20 ЖК. Качественный состав ЖК существенно варьировал по сезонам. Если летом и осенью у сосны, ели и березы идентифицировали 10-14 ЖК, то зимой – около 20 ЖК. Во все сезоны основными насыщенными ЖК являлись С12:0 (лауриновая), С14:0 (миристиновая), С16:0 (пальмитиновая) кислоты, а ненасыщенными ЖК – С18:2 (линолевая) и С18:3 (линоленовая) кислоты. Сезонная динамика количества ЖК показывает выраженную тенденцию увеличения их абсолютного содержания от лета к зиме. Пик относительного содержания ненасыщенных ЖК приходился на осенние месяцы, уменьшаясь в зимний период. Особенностью жирнокислотного состава зимних растений также являлось появление большого числа уникальных ЖК, например, метилированных (Ме С14:0 и С16:0), изо-кислот (i-С18:1), ЖК нечетного ряда (С15:0, С17:0, С19:0, С23:0) и длинноцепочечных ЖК (С 22).

Предполагается, что выявленные выше закономерности, присущие зимующим органам (хвое и почкам): высокое абсолютное содержание суммарных ЖК, особенно их ненасыщенных форм, влияющих на стабилизацию клеточных мембран, а также многообразие уникальных ЖК, могут играть существенную роль в формировании криорезистентности этих растений в условиях Якутии.

РОЛЬ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ЭТИЛЕНА С САЛИЦИЛОВОЙ И ЖАСМОНОВОЙ КИСЛОТАМИ В РАЗВИТИИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ К ГРИБНОЙ ИНФЕКЦИИ С УЧАСТИЕМ КОМПОНЕНТОВ ПРО-/АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ

Ethylene interaction with salicylic and jasmonic acids in the development of non-specific resistance of wheat plants to fungal infection involves components of pro-/antioxidant system

Нужная Т.В., Веселова С.В., Максимов И.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа, Россия; tanyawww89@mail.ru

Хорошо известно, что наряду с салициловой (СК) и жасмоновой (ЖАК) кислотами этилен участвует в регуляции защитных реакций при формировании системной устойчивости растений к патогенам. СК формирует устойчивость растений к биотрофным патогенам, а ЖК/этилен - к фитофагам и некротрофам. Причем между сигнальными путями, регулирующимися этими гормонами, существует обширная сеть взаимодействий, механизмы которой еще до конца не расшифрованы, особенно, для однодольных растений. Индукция защитных реакций в растениях при развитии системной устойчивости, связана с синтезом сигнальных молекул, активацией экспрессии ряда генов защитных PR-белков (pathogenesis related-proteins) и направлена на предотвращение развития и распространения патогена и упрочнения клеточной стенки. Первой защитной реакцией растений на проникновение патогена считается локальная генерация активных форм кислорода (АФК) – окислительный взрыв, запускающий каскад последующего защитного ответа. Образование и утилизация АФК катализируется различными оксидазами – ферментами про-/антиоксидантной системы (пероксидазой (ПО), каталазой (КАТ) и др.), активность которых находится под контролем фитогормонов, в том числе СК, ЖАК и этилена.

В данной работе было изучено влияние обработки химическим предшественником этилена - этефоном (ЭТ), ингибирования рецепции этилена с помощью 1-метилциклопропена (1-МЦП) и композиций ингибитора 1-МЦП и предшественника ЭТ с СК и ЖАК на развитие защитных реакций и состояние про-/антиоксидантного статуса растений пшеницы, инфицированных гемибиотрофным грибом *Septoria nodorum* Berk. Наши исследования показали, что обработка растений ЭТ сильно уменьшала их устойчивость к патогену *S. nodorum*, что проявлялось в обширных зонах поражения с хлорозами и развивающимися пикнидами, как предполагается за счет снижения генерации H_2O_2, увеличения активности КАТ и ингибирования активности ПО. Напротив, при ингибировании рецепции этилена 1-МЦП все защитные реакции (накопление H_2O_2, повышение активности ПО и лигнификация клеточных стенок) шли интенсивнее, устойчивость растений повышалась. Обработка ЭТ приводила также к уменьшению накопления или отсутствию транскриптов генов защитных белков (маркерного белка салицилатного пути PR-1, глюканаз (PR-2), хитиназ (PR-3) и лигнинобразующие пероксидаз (PR-9)), а обработка 1-МЦП увеличивала накопление транскриптов изучаемых генов. Предпосевная обработка семян СК и ЖАК положительно влияла на устойчивость растений пшеницы к септориозу, как предполагается за счет более интенсивной генерации H_2O_2 и увеличения накопления транскриптов изучаемых генов, что приводило к уменьшению симптомов заболевания. Окислительный взрыв, который мы наблюдали при инфицировании в обработанных сигнальными молекулами растениях, происходил благодаря ингибированию активности КАТ и увеличению активности ПО, что приводило к увеличению лигнификации и образованию барьера для патогена, в результате чего зоны поражения уменьшались.

Взаимодействие этилена и СК чаще всего описывается как антагонистическое. Наши данные показывают, что обработка 1-МЦП после СК приводила к увеличению устойчивости растений пшеницы, за счет синергичного влияния СК и 1-МЦП на компоненты про-/антиоксидантной системы. Интересно, что обработка ЭТ после СК не приводила к значительному снижению устойчивости пшеницы, хотя ингибирующий эффект ЭТ на реакции, индуцированные СК, проявлялся на начальной стадии заражения в подавлении генерации H_2O_2 и активности ПО. Взаимодействия ЖАК и этилена во многих случаях являются синергичными, но ЖАК может также индуцировать защитные реакции независимо от этилена. Наши данные показывают, что обработка 1-МЦП после ЖАК приводила к увеличению устойчивости растений пшеницы, а обработка ЭТ после ЖАК ингибировала защитные реакции, индуцированные ЖАК, что проявлялось в снижении генерации H_2O_2 и активности ПО на поздних стадиях заражения и, как следствие, приводило к обширным зонам поражения.

Таким образом, наши результаты говорят о том, что этиленовый сигналинг отрицательно влияет на защитный ответ растений при гемибиотрофной инфекции, затрагивая компоненты про-/антиоксидантной системы и, можно сказать, что СК, ЖАК и этилен в системе пшеница-гемибиотроф действуют в основном антогонистично, но в присутствии СК отрицательный эффект этилена на устойчивость пшеницы снимается.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 14-04-97079-р_поволжье_а.

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ФЕНОТИПИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ТАБАКА В РЯДУ ПОКОЛЕНИЙ

Phenotypic characters variability of transgenic tobacco plants in successive generations

Нурминская Ю.В., Максимова Л.А., Копытина Т.В., Еникеев А.Г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия; nurminskaya@sifibr.irk.ru

Считается, что изменчивость фенотипических признаков может зависеть от влияния внутренних или внешних факторов. Генетическая трансформация – один из примеров комплексного воздействия ряда стрессовых факторов, которое может приводить к изменению вариабельности признаков. Наиболее существенным при генетической трансформации является факт генетической вставки, поскольку такой стресс, которые называют генетическим, может приводить к нарушению устойчивой, слаженной работы генома. В связи с этим возможно увеличение изменчивости признаков, в том числе флуктуирующей асимметрии, у трансгенных растений.

Цель работы заключалась в изучении изменчивости ряда признаков у трансгенных растений табака в нормальных и стрессовых условиях.

В качестве объекта исследования использовали растения табака сорта Самсун, трансформированные штаммом *Agrobacterium tumefaciense* A699 с геном *nptII*. Трансформацию листовых дисков осуществляли по стандартной методике. ПЦР-анализ показал наличие амплификата 700 пар оснований, соответствующего гену *nptII* у растений T_0, T_1 и T_6. Расщепление по признаку канамицинустойчивости у проростков поколения T_1 было 3:1, что свидетельствовало о вставке одной копии генетической конструкции. Полученные растения T_1-T_5 выращивали в климатических камерах. Оптимальные условия: температура 25°С, освещенность 200 мкмоль/(м^{2}с), фотопериод 14 ч. Провели эксперименты с использованием различных комбинаций освещенности и температуры: повышенная освещенность (700 мкмоль/(м^{2}с)) при оптимальной температуре (25°С), пониженная (15°С) и повышенная (35°С) температура при оптимальной освещенности (200 мкмоль/(м^{2}с)). Для изучения изменчивости признаков использовали такие параметры, как: длина стебля, общая площадь листовой поверхности, длины междоузлий, сухой вес, интенсивность фотосинтеза и др. Относительную величину изменчивости признаков определяли с помощью квартильного коэффициента рассеяния (индекса изменчивости Ии по формуле:

$$Ии=|П25-П75|/(П25+П75),$$

где П25 и П75 – соответствующие процентили (квартили).

Статистическую обработку результатов выполняли при помощи программ Excel 2007 (Microsoft Office) и Statistica 6.0. (Stat Soft, Inc. 2001). Достоверность отличий между контрольными и трансформированными растениями определяли по критерию Манна-Уитни (p 0,005).

Выявили, что в *оптимальных* условиях у контрольных и трансгенных растений изменчивость была примерно на одном уровне. Отметили увеличение числа признаков с повышенной изменчивостью у поколения T_5 и более дружное начало цветения (т.е. сниженную изменчивость) у трансгенных растений по сравнению с контролем.

Результат вычисления индекса изменчивости для растений табака, трансформированных штаммом *A.t.* A699 (*nptII*) при повышенном освещении а также в условиях низкой и высокой температуры, показал, что сильный эффект на увеличение изменчивости признаков произвело понижение температуры до +15°С (статистически достоверные отличия от контроля у T_1, T_3, T_4). При этом не наблюдали увеличения изменчивости при воздействии экстремальной освещенности и температуры 35°С. Таким образом, можно заключить, что не каждый стресс-фактор приводит к увеличению изменчивости. Изучением изменчивости можно выявить те неблагоприятные факторы, к которым исследуемые растения наиболее чувствительны: например, в случае данной линии трансгенных растений им оказалось понижение температуры.

Таким образом, обобщая полученные данные, можно заключить следующее. В оптимальных условиях отличия между трансгенными и контрольными растениями были несущественными. Однако воздействие стрессовых факторов выявило различную реакцию трансформированных и нетрансформированных растений на неблагоприятное воздействие. Более сильная реакция трансформантов, выраженная в общей изменчивости признаков, может свидетельствовать о наличии остаточных явлений дестабилизации генома у них вследствие генетической трансформации.

ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ МОРФОЛОГИИ ВАКУОЛИ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ

Investigation of plant cell vacuole morphology peculiarities

Нурминский В.Н., Нестеркина И.С., Озолина Н.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия; cell@sifibr.irk.ru

Обсуждаются результаты исследования особенностей строения изолированных вакуолей, а также микровязкости вакуолярных мембран клеток корнеплода столовой свеклы (*Beta vulgaris* L.). Для визуализации мембраны и ее элементов, исследования морфологической структуры мембран, а также для оценки микровязкости липидного бислоя применялась конфокальная микроскопия (конфокальный люминесцентный сканирующий лазерный микроскоп MicroTime 200 (PicoQuant GmbH, Германия). Были использованы следующие флуоресцентные зонды: лаурдан (2-(диметиламино)-6-додеканоилнафталин), АНС (8-анилино-1-нафталинсульфоновая кислота), бис-АНС, дифенилгексатриен (ДФГ) и филипин. При исследовании препаратов изолированных вакуолей во всех случаях отчетливо регистрировались элементы тонопласта, везикулы и объекты, которые внешне имеют вид нитей, являющиеся, по-видимому, трубчатыми трансвакуолярными нитями (мембранными транспортными структурами (МТС)). Наблюдавшееся в исследованиях отпочковывание везикул от мембраны изолированной вакуоли происходило, скорее всего, по типу эндоцитоза или экзоцитоза (в этих случаях везикулы наблюдались как внутри, так и снаружи вакуолей). Гипер- или гипоосмотические условия вызывали увеличение количества везикул, при этом наблюдался распад вакуолей на большое количество мелких везикул. Нарушение целостности мембраны не всегда приводило к распаду вакуоли. При возникновении локального дефекта мембраны вакуоль теряла внутреннее содержимое, т.е. часть мембранных трубок могла выходить наружу, а затем место дефекта «залечивалось», и целостность вакуолярной мембраны восстанавливалась.

Обнаружено, что длина МТС варьирует в широких пределах и может достигать более 300 мкм, что в несколько раз превышает средний диаметр вакуоли, 60 мкм. Посредством метода цейтраферного сканирования установлено, что везикулы, связанные с МТС, могут перемещаться в пространстве относительно закрепленных к подложке изолированных вакуолей, что может быть объяснено либо движением везикул по МТС, либо смещением целиком МТС с закрепленными к ней везикулами. В последнем случае, возможно, происходит изменение длины МТС.

Логично предположить, что обнаруженные нами такие элементы мембранной структуры, как везикулы и МТС участвуют в реализации некоторых функций клетки (например, транспортной функции). Можно предположить, что обнаруженные нами трубчатые структуры имеют липид-белковую природу, поскольку они хорошо окрашиваются используемыми нами мембранными зондами, и обладают такой же микровязкостью, как и сама вакуолярная мембрана (микровязкость оценивалась по значениям генерализованной поляризации (GP) флуоресценции лаурдана). Кроме того, мы предполагаем, что обнаруженные нами структуры вакуолярной мембраны определенным образом связаны с элементами цитоскелета. Примечательно, что, мембрана изолированной вакуоли окрашивается неоднородно судя по интенсивности флуоресценции мембранных зондов лаурдан, АНС, бис-АНС, ДФГ и филипин. Особенно это заметно при сканировании верхней (по отношению к подложке) поверхности вакуоли, при этом значительная площадь мембраны оказывается в фокальной плоскости микроскопа. На снимках были отчетливо видны ярко флуоресцирующие участки и треки внутри вакуолярной мембраны. Они характеризуются повышенной интенсивностью флуоресценции, которая примерно в 10 раз выше интенсивности флуоресценции рядом расположенных участков мембраны. Зная, что зонд АНС имеет большее сродство к белкам, можно предположить, что эти треки могут оказаться участками повышенного содержания белковых структур мембраны, попавшие в зону сканирования микроскопа. Установлено, что такие участки обладают высокой подвижностью. Применение стерин-связывающего мембранного зонда филипина позволило выявить на мембране изолированных вакуолей крупные домены (области) двух типов: стерин-содержащие и безстериновые (содержащие стерин в очень малых количествах). Кроме того, регистрировались мелкие стерин-обогащенные участки.

Анализ данных о флуоресценции лаурдана позволяет судить о фазовом состоянии (и плотности упаковки) липидов мембраны. Средние значения GP флуоресценции ярко флуоресцирующих областей и целой мембраны достоверно различаются (-0,22 и -0,04, соответственно). Однако характер распределения значений GP в случае ярких областей был иным по сравнению с распределением значений GP для целой мембраны. Можно выявить три отдельных пика в диаграмме распределения значений GP флуоресценции лаурдана в областях с повышенной интенсивностью флуоресценции. Полученные данные свидетельствует о том, что микровязкость интенсивно флуоресцирующих областей существенно отличатся от остальной части мембраны. В дальнейшем представляется перспективным исследовать связь вакуолярной мембраны с элементами цитоскелета, что может оказаться полезным для уточнения функциональной роли этих структур в клетке.

В работе использовалось оборудование Байкальского аналитического центра (ЦКП) ИНЦ СО РАН. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 14-04-31103 мол_а.

ВОДНЫЙ СТАТУС И ВАКУОЛИЗАЦИЯ В СЕМЕНАХ ПРИ ПРОРАСТАНИИ

Hydration status and vacuolation in germinating seeds

Обручева Н. В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; obroucheva@ippras.ru

Прорастание семян – это переход из состояния вынужденного покоя в состояние активного роста. По представлениям Д.А. Сабинина такие кардинальные переходы определяются тремя факторами : готовность, возможность и триггер. Семена обладают информационной и метаболической готовностью к прорастанию и могут осуществлять его при благоприятных условиях температуры, освещения и аэрации, если присутствует вода, выполняющая роль триггера. Действительно, только набухание осевых органов семян до критической для прорастания влажности при наличии готовности и благоприятных внешних условий может инициировать прорастание.

Прорастание семян осуществляется за счет растяжения клеток осевых органов зародыша. При набухании всех типов семян в них происходит подготовка к началу роста растяжением, заключающаяся в накоплении эндогенных осмотиков для дальнейшего поступления воды, образование и увеличение вакуолей как водного резервуара и осмотического компартмента, а также подкисление клеточных стенок, повышающее их растяжимость. У всех типов семян поступление воды при набухании происходит путем диффузии, хотя водные каналы, сформированные из аквапоринов, присутствуют, но не функционируют. В начале набухания диффундирующая в осевые органы вода связывается за счет матричных сил гидрофильными группами белков и полимеров клеточных стенок, а после их насыщения она поступает по осмотическому градиенту в вакуоли. Водные каналы в плазмалемме и тонопласте открываются только после начала прорастания, когда клетки интенсивно растягиваются и поступление воды в них усиливается.

Два типа семян – ортодоксальные (обычные) и рекальцитрантные («непослушные») - отличаются по водному статусу, длительности жизни и скорости прорастания. Ортодоксальные семена без вреда высыхают после созревания до влажности 8-10% и могут храниться в этом состоянии достаточно долго, пока при наличии воды и благоприятных внешних условий они не прорастут. Рекальцитрантные семена характерны для тропических и субтропических лесов, они гибнут, если высыхают до 40-30% влажности, но поскольку опадают в сезон дождей и оказываются во влажном воздухе в мокрой подстилке, быстро прорастают; при хранении такие семена погибают.

На примере кормовых бобов (ортодоксальный тип) и конского каштана (рекальцитрантный тип), для которых характерно прорастание за счет только растяжения клеток, без участия делений, были охарактеризованы водный статус и особенности вакуолизации осевых органов. В кормовых бобах осевые органы имеют влажность около 10%; их вакуоли представлены белковыми телами, т.е. наполнены запасными белками. При набухании до 50-55% происходит гидролиз запасенных белков и постепенная реставрация вакуолей, они сливаются, участки цитоплазмы между ними подвергаются деградации, объем вакуолей увеличивается, что предшествует началу растяжения клеток. Так развиваются события в гипокотиле, растяжение клеток которого проталкивает кончик корня через семенные покровы, т.е. происходит инициация роста. В самом корешке белковых тел очень мало и в образующихся при делениях клетках меристемы корня доминирует образование вакуолей из лагун эндоплазматического ретикулума – другой путь вакуолизации растущих клеток.

В осевых органах конского каштана, имеющих влажность 63-65%, нет белковых тел, т. к. вакуоли, образовавшиеся при созревании, не наполняются белком и сохраняются. Если эти семена уходят в покой, физиологическая активность вакуолей сохраняется. При набухании непокоящихся семян имеющиеся вакуоли начинают расширяться и далее все происходит как в ортодоксальных семенах, но только гораздо быстрее, в виду сохранности вакуолей. В растягивающихся клетках большая центральная вакуоль оттесняет цитоплазму к периферии клеток. Быстрая вакуолизация клеток является залогом быстрого начала растяжения клеток, т.е начала прорастания.

Таким образом, имеется три способа вакуолизации клеток в осевых органах семян (реставрация белковых тел, сохранение имеющихся вакуолей и образование новых из ЭР в клетках меристемы корня), прямо зависимых от водного статуса семян, но приводящих к одному результату – успешной инициации растяжения клеток в прорастающих семенах.

ВЛИЯНИЕ СПЕКТРАЛЬНОГО СОСТАВА СВЕТА СВЕТОДИОДНЫХ ИЗЛУЧАТЕЛЕЙ БОКОВОЙ ДОСВЕТКИ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ ВЫСОКОСТЕБЕЛЬНЫХ ТОМАТОВ

The effect of the spectral composition of LED emitter lighting for side illumination on growth and development the high-stem tomato

Обуховская Л.В., Зубей Е.С., Куделина Т.Н., Казакевич А.В.

Государственное научное учреждение Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф.Купревича Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь; olv_8@mail.ru

Необходимость в модернизации, замене традиционных источников досветки парниковых культур лампами типа ДНАТ с каждым годом, по мере удорожания электричества обостряется. Одним из стратегических направлений реализации энергосберегающих технологий является их замена на светодиодные излучатели (СДИ). К настоящему времени накоплен достаточно большой опыт, указывающий на высокую эффективность использования излучателей на основе светодиодов для возделывания овощных культур в регулируемых условиях, а также о влиянии спектрального состава света на синтез вторичных метаболитов и продуктивность растений. Исследования показывают, что для получения максимального хозяйственно ценного урожая необходимо учитывать видовые и сортовые особенности растений, а также стадию их развития. Выяснение оптимального спектра для выращивания высокостебельных томатов с. Тореро было целью нашей работы.

Объектом исследования были томаты *Lycopersicon esculentum* Mill. сорта Тореро, выращиваемые в условиях биотехнологического комплекса (БТК) при боковой досветке СДИ. Для освещения использовали СДИ с отношениями красный:синий 2,1:1 (содержание % по PPF: 400-499 нм – 23,5%; 500-599 нм – 19,6%; 600-699 нм – 48,6%; 700-800 нм – 8,3%) (вариант 1); 6:1 (содержание % от PPF: 400-499 нм – 11,8%; 500-599 нм – 9,3%; 600-699 нм – 70,4%; 700-800 нм – 8,5%) (вариант 2); 4,2:1 (содержание % по PPF: 400-499 нм – 15,0%; 500-599 нм – 12,8%; 600-699 нм – 63,5%; 700-800 нм – 8,7%) (вариант 3). Контролем (К) служили томаты сорта Тореро, выращиваемые под лампами ДНАТ+МГ (лампа «Silvania»). Это сочетание позволило создать спектр освещения максимально близкий солнечному. Влажность и температура воздуха, фотопериод – во всех вариантах были одинаковыми.

Анализ динамики морфометрических параметров томатов сорта Тореро показал, что развитие растений при всех вариантах освещения проходило нормально, лишь длина стеблей во вариантах 1 и 2 СДИ досветки была в среднем на 20% меньше, чем у контрольных растений, а в варианте 3 (К:С 4:1) – всего лишь на 5%. При этом по диаметру стебля достоверные отличия отмечены не были. Количество цветков в среднем на 1 растение в начале вегетации было выше в варианте 1, но уже через месяц растения варианта 3 стали лидировать. При этом количество междоузлий и листьев также различались не существенно.

Установлено, что при боковой досветке СДИ с соотношением К:С 2:1 у растений листовая пластинка была тоньше, чем в контроле и соотношении К:С 4:1 и 6:1, что, возможно, связано с большой долей зеленого света в спектре. При соотношении спектра К:С 6:1 УППЛ листа был самым высоким. Динамика содержания пигментов в листьях томатов имела колебательный характер, что вероятно, обусловлено расположением пробного листа по отношению к СДИ. Достоверные отличия отношения *chl a/b* и *chl/car* при разных вариантах освещения отмечены не были.

Исследования параметров флуоресценции хлорофилла показали, что наиболее эффективная и стабильная работа фотосинтетического аппарата наблюдалась в варианте 3 (К:С 4:1). В плодах томатов этого варианта наблюдали и накопление большего количества сухого вещества, по сравнению с контролем и остальными вариантами боковой СД досветки. В то же время скорость фотосинтеза, измеренная по O_2-газообмену, у растений этого варианта не была самой высокой, но темновое дыхание в подавляющем количестве измерений было самым низким, что и обеспечило в конечном итоге наибольшую продуктивность растений этого варианта.

Следовало, однако, удостовериться, что используемые нами соотношения спектров не являются стрессовыми для растений томатов. Так, одним из индикаторов стресса является повышенное содержание аминокислот в листьях растений, в частности пролина, поэтому нами исследовался и этот показатель. Мы отметили цикличный характер содержания пролина в листьях растений томатов, особенно в вариантах 2 и 3, что, с одной стороны, может свидетельствовать о стрессе, а с другой о том, что у растений этих вариантов сформировался более устойчивый к стрессу морфотип.

Пищевая ценность плодов томатов оценивалась также по содержанию ликопина. По нашим данным, больше всего его образовывалось в плодах при соотношении К:С 2:1 (8,1 мг/100 г сырого веса).

Урожай томатов (на растение) сорта Тореро был выше во всех вариантах боковой СДИ досветки на 17-20% выше, чем в контроле. При этом средний вес плода был больше на 9-16%, чем в контроле.

Таким образом, показано, что СДИ являются эффективным источником света при выращивании высокостебельных томатов в закрытом грунте.

ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ В ХВОЕ *PINUS SYLVESTRIS* L. И *PINUS SIBIRICA* DU TOUR. В СРЕДНЕМ ПРИОБЬЕ

Changes in the content of photosynthetic pigments in needles of *Pinus sylvestris* L. and *Pinus sibirica* Du Tour. in the middle Ob River region

Овечкина Е.С.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Нижневартовский государственный университет», Нижневартовск, Россия; pinus64@mail.ru

Актуальность изучения содержания пигментов и их изменчивость обусловлены необходимостью определения региональных отличий и определения зависимости от различных факторов среды и территориальных особенностей Среднего Приобья. В настоящее время данные показатели широко используются при биоиндикации состояния окружающей среды и конкретных сообществ.

Изучение содержания фотосинтетических пигментов в хвое сосны обыкновенной и сибирской на территории Среднего Приобья проводились с 2006 по 2014 гг. За этот период были накоплены сведения по содержанию хлорофиллов в хвое исследуемых видов, данные оформлены и зарегистрированы в виде базы данных в Роспатенте. При проведении информационного анализа и систематизации данных было определены типы сообществ, время отбора и географическое местоположение (высота над у.м., широта и долгота). В дальнейшем был проведен анализ зависимости изменений содержания фотосинтезирующих пигментов от различных экологических факторов у обоих видов.

Исследуемая территория отличается характерными географическими особенностями: перепадами высот от 32 до 125 м. над у.м. с запада на восток и с юга на север, и соответственно - заболоченностью.

Сезонные изменения поступления света на подстилающую поверхность, сезонные и суточные перепады температур, влажность и облачность, а также другие географические факторы определяют региональные особенности содержания пигментов в листьях растениях.

В результате работы были отмечены следующие закономерности колебаний содержания пигментов в хвое двух видов сосны:

- содержание хлорофилла *b* в хвое выше содержания хлорофилла *a* вне зависимости от мест произрастания, но меньше различия наблюдаются у особей из сообществ, произрастающих на участках с повышенным рельефом в Верхне-Вахском геоботаническом округе и в районе Сибирских увалов. Диапазон сезонных колебаний составляет у сосны обыкновенной до 0,2-0,5, а у сосны сибирской – 0,1-0,3;
- максимальное содержание хлорофилла *b* наблюдается у молодой, растущей хвои, более стабильные показатели (с наименьшими колебаниями) – у хвои второго года жизни;
- при расчете корреляции содержания пигментов в хвое и факторов природной среды было отмечено, что существует прямая зависимость для сосны обыкновенной от температуры и влажности (вне зависимости от мест обитания, типа сообществ); для сосны сибирской – от минерального состава почвы;
- суммарное содержание пигментов в хвое обоих видах меняется в зависимости от сезона и условий обитания, но наибольшие изменения по содержанию отмечаются у сосны обыкновенной;
- наименьшие колебания содержания пигментов отмечены у растений, произрастающих в сообществах зеленомошной группы с сомкнутостью крон от 0,6 и выше.
- в северной части таежной подзоны наблюдается уменьшение содержания пигментов у обоих видов, что обусловлено меньшими сроками вегетации.

При анализе изменений содержания пигментов в зависимости от сезона выявилось, что в хвое сосны обыкновенной диапазон колебаний выше и реакция на факторы среды быстрее.

Таким образом, изменчивость или «колебания» содержания пигментов может служить показателем, отражающим состояние территории, сообщества или конкретной особи.

ПРОДУКЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ РАСТЕНИЙ *BETA VULGARIS* L. ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ НА ПОЧВО-ПОДОБНОМ СУБСТРАТЕ В УСЛОВИЯХ ИСКУССТВЕННЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ

Production characteristics of *Beta vulgaris* L. plants at cultivation on soil-like substrate under conditions of artificial ecological systems

Овсянникова А.М.[1], Тихомирова Н.А.[2], Ушакова С.А.[2], Величко В.В.[2], Грибовская И.В.[2], Тихомиров А.А.[2]

[1] *Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Сибирский федеральный университет», Красноярск, Россия; Okcy92@mail.ru*

[2] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биофизики Сибирского отделения Российской академии наук, Академгородок, Красноярск, Россия; n.tikhomirova@mail.ru*

Возможность совершенствования фототрофного звена для биорегенеративных систем жизнеобеспечения (БСЖО), являющихся частным случаем искусственных экосистем, может быть связана с разработкой технологии оптимального снабжения растений минеральными элементами. Особенно это важно, когда источниками питания растений являются отходы растительногопроисхождения. При использовании в БСЖО почвоподобного субстрата (ППС) для культивирования овощных растений необходимо будет возвращать обратно в ППС выращенную несъедобную биомассу растений для возмещения вынесенных с несъедобной массой минеральных элементов. Однако неизвестно, как прямое внесение несъедобной массы овощных растений в ППС скажется на росте следующего поколения растений.

Целью настоящей работы являлось изучение продуктивности и минерального состава растений свеклы в зависимости от вида вносимой в ППС несъедобной растительной биомассы применительно к БСЖО. В качестве объекта исследований были выбраны растения свеклы (*Beta vulgaris* L.) сорта «Бордо». Культивирование растений проводили в условиях интенсивной светокультуры при интенсивности ФАР 150 Вт/м^2 и естественной концентрации углекислого газа. Освещение круглосуточное, температуру воздуха поддерживали на уровне 24°С. Ботву растений вносили в ППС в начале эксперимента, перед посевом растений. Эксперимент включал 4 варианта: вариант 1 – в ППС вносили 1,1 кг/м^2 (в расчете на сухой вес) измельченной ботвы свеклы; вариант 2 – в ППС вносили 1,1 кг/м^2 (в расчете на сухой вес) измельченной ботвы моркови; вариант 3 – в ППС вносили 0,55 кг/м^2 (в расчете на сухой вес) измельченной ботвы свеклы и 0,55 кг/м^2 (в расчете на сухой вес) измельченной ботвы моркови; вариант 4 - контроль – в ППС ничего не вносили.

Установлено, что внесение ботвы моркови в ППС при культивировании растений свеклы наиболее благоприятно сказывается на продуктивности данного вида овощных растений. Вероятно, это связано с высокой эффективностью минерализации ботвы моркови в ППС, в результате чего получена высокая продуктивность растений в варианте 2 (1,7 кг/м^2 в расчете на сухую массу корнеплодов). Меньшая продуктивность растений в контрольном варианте (0,8 кг/м^2 в расчете на сухую массу корнеплодов) по сравнению со вторым опытным вариантом, вероятно, связана с тем, что доступных в ППС минеральных элементов недостаточно для получения высокого урожая свеклы и необходимо дополнительно вносить в ППС легко окисляемую растительную биомассу. Низкий урожай свеклы, полученный при внесении в ППС ботвы свеклы (0,5 кг/м^2 в расчете на сухую массу корнеплодов) или смеси ботвы свеклы и ботвы моркови (0,4 кг/м^2 в расчете на сухую массу корнеплодов), может свидетельствовать о более медленной скорости разложения ботвы свеклы в ППС, чем моркови, а также о наличии в надземной части свеклы веществ, ингибирующих рост растений. Тем не менее, внесение несъедобной биомассы свеклы в ППС приводит к обогащению корнеплодов свеклы следующего поколения калием, кальцием и магнием. Возможно, изменение технологии обработки ботвы свеклы перед внесением в ППС позволит повысить продуктивность растений *Beta vulgaris*.

Полученные результаты будут учтены при формировании программы утилизации растительных отходов в ППС для разновозрастных конвейеров растений экспериментальной модели замкнутой экосистемы.

ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ СОМАТИЧЕСКИХ МУТАЦИЙ И МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК ПРИ СТАРЕНИИ РАСТЕНИЙ *ARABIDOPSIS THALIANA*

Age-associated alterations in the somatic mutation level in *Arabidopsis thaliana*

Огнева З.В.[1,2], Дубровина А.С.[2], Тюнин А.П.[2], Киселев К.В.[1,2]

[1] *Дальневосточный федеральный университет, Школа естественных наук, Владивосток, Россия*
[2] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Биолого-почвенный институт Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток, Россия; slyan_556@inbox.ru*

Возрастные накопление соматических мутаций - это важный механизм старения и причина различных заболеваний у животных. Однако влияние соматического мутагенеза и метилирования/деметилирования ДНК на старение растений до сих пор не было исследовано. Мы использовали растения *Arabidopsis thaliana*, чтобы узнать влияет ли увеличение возраста однолетнего растения на уровень и молекулярный спектр соматических мутаций ДНК. Роль соматического мутагенеза и метилирования ДНК при старении растений ранее не изучалась.

Уровень соматических мутаций и метилирования ДНК был изучен в девяти случайно выбранных контрольных участках ДНК *A. thaliana*, которые находятся в ядерном геноме (часть кодирующей области гена *Actin2*, область *Actin2 3'UTR*, ген *CMT3*, ген *tRNAPro* и *ITS1*-5.*8rRNA-ITS2*), митохондриальной ДНК (цитохром С оксидаза, белок с неизвестной функцией и некодирующая белки митохондриальная ДНК) и хлоропластной ДНК (*rbcL* ген).

Целью данной работы было исследовать уровень соматических мутаций и метилирования ДНК в девяти случайно выбранных кодирующих и не кодирующих участков ДНК на разных стадиях роста и развития жизненного цикла растений *A. thaliana*. Для сравнения частоты и типов соматических мутаций на разных стадиях жизненного цикла *A. thaliana* были отобраны по 2 растения *A. thaliana* после 1, 4, 8 и 12 недель культивирования. Так же для анализа скорости накопления мутаций мы отобрали 100 семян с одного родительского растения. С помощью ПЦР выбранные участки ДНК *A. thaliana* были амплифицированы (подбор праймеров осуществляли на основе уже известных последовательностей, депонированных в GenBank). ПЦР-продукты были выделены из агарозного геля, затем клонированы и секвенированы. Суммарный уровень небольших мутаций (точечных нуклеотидных замен, инсерций, делеций) на 1000 нуклеотидов был подсчитан с помощью специальных формул и статистически обработан.

Скорость накопления мутаций в исследуемых участках ДНК значительно увеличивалась с возрастом *A. thaliana* (от 0,8 мутаций на 1000 нуклеотидов у однонедельного проростка до 1.4 мутаций на 1000 нуклеотидов у 12-недельного растения). Уровень мутаций у 1-, 4-, 8-, и 12- недельных растений *A. thaliana* был значительно выше, чем у исследованных семян. Наибольшая частота соматических мутаций была детектирована для некодирующего межгенного спейсера *ITS* и 3' нетранслируемой области гена актина *ActinU1,* в то время как частота мутаций кодирующих участков ДНК *ActinC3*, *CMT*, *Mitoch2* и *Mitoch3* значительно не изменялась в течение трехмесячного жизненного цикла *A. thaliana*. Подавляющее большинство наблюдаемых нуклеотидных замен представлено транзициями (около 86%). При этом транзиции A:T G:C встречались наиболее часто. Также мы обнаружили небольшое количество трансверсий во всех исследуемых участках ДНК. Мы также отметили, что около 50% нуклеотидных замен в белок-кодирующих участках ДНК являются сайлент мутациями.

Бисульфитное секвенирование показало, что уровень метилирования цитозина в участках генов *Actin2, RbCl* и *tRNAPro-tRNACys* заметно уменьшается с возрастом *A. thaliana*, в то время как существенных изменений в уровне метилированного цитозина в течение 3 месяцев жизненного цикла *A. thaliana* не были обнаружены в межгенном спейсере *ITS1-5.82rRNA-ITS2.* Кроме того показано, что экспрессия метилтрансфераз уменьшалась в течении анализируемых 3 месяцев жизненного цикла *A. thaliana*. Полученные данные свидетельствуют о том, что некоторые участки ДНК растений могут деметилироваться во время старения растений.

Полученные данные свидетельствуют о том, что некоторые области ДНК растений могут аккумулировать соматические мутации при росте, развитии и старении однолетнего растения. Данные подтверждают гипотезу о том, что соматические мутации могут способствовать возрастной деградации и возможной смерти растений. Поскольку у растений отсутствует защита их зародышевых клеток и гамет, которые, как известно, формируются у растений на последних стадиях жизненного цикла путем дифференциации соматических меристематических клеток, соматические клетки могут накапливать мутации и передавать их в будущие поколения растений, что потенциально может влиять на экологическую и эволюционную приспособленность растений.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (13-04-01902).

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОТЕНЦИАЛА УСТОЙЧИВОСТИ ГЕНОТИПОВ АБРИКОСА К ГИПОТЕРМИИ

Ожерельева З.Е., Прудников П.С., Попкова А.С.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур, Орел, Россия; info@vniispk.ru.

Абрикос – одна из самых популярных плодовых культур, которая характеризуется высокой урожайностью, скороплодностью и другими хозяйственно-биологическими свойствами. Основным недостатком абрикоса является невысокая морозостойкость. В средней зоне садоводства, где наблюдаются зимой резкие перепады температуры, у абрикоса быстро завершается период покоя. В результате начинается развитие цветковых почек, которые частично или полностью гибнут при последующем понижении температуры. Устойчивость почек абрикоса в зимний период в первую очередь зависит от состояния деревьев и от продолжительности влияния низких температур. Максимальная морозостойкость генеративных почек отмечается в декабре - начале января, когда они способны выдерживать от -27 до -30ºС. Теплая зима с периодическими морозами ускоряет их развитие, снижая морозостойкость, и тогда температура в марте -15…-20ºС может быть губительной для будущего урожая.

В целях определения потенциала устойчивости к абиотическим факторам зимнего периода проводили в лабораторных условиях моделирование основных компонентов зимостойкости. Объектами исследований служили сорта селекции ВНИИСПК – Кунач, Орловчанин и формы абрикоса других научных учреждений - Байкалов 6-47 и гибридный №2 из Красноярска**.** Оценку материала по основным компонентам зимостойкости проводили по методике «Определение устойчивости плодовых и ягодных культур к стрессам холодного времени года в полевых и контролируемых условиях» (2002). Искусственное промораживание выполняли в климатической камере «Espec» PSL-2KPH (Япония). Анализ продуктов перекисного окисления липидов – малонового диальдегида оценивали по реакции взаимодействия с тиобарбитуровой кислотой (Стальная, Гаришвили, 1977), гидроперекисей липидов – с помощью тиоцианата аммония (Романова, Стальная, 1977).

В средней полосе России возможны понижение температуры в начале зимы до -25˚С, поэтому плодовые растения должны набирать необходимый уровень устойчивости. По результатам искусственного промораживания все изучаемые генотипы абрикоса проявили высокую морозостойкость вегетативных почек и тканей к раннезимнему морозу -25˚С (I компонент зимостойкости). При этом генеративные почки не повредились у генотипа Гибридный №2 из Красноярска. У остальных генотипов абрикоса отмечено поврежденных генеративных почек до 2,0 баллов.

В конце декабря у абрикоса развивается максимальная морозостойкость, которая в дальнейшем несколько снижается. Исходя из того, что абрикос обладает узким диапазоном устойчивости к гипотермии моделировали зимний мороз -30˚С (II компонент зимостойкости). При снижении температуры до -30˚С высокую морозостойкость проявила форма Гибридный №2 из Красноярска. У данного генотипа вегетативные почки и ткани имели незначительные повреждения – до 1,0 балла. Генеративные почки повредились до 2,0 баллов. Сорта Байкалов 6-47, Кунач, Орловчанин также характеризовались морозостойкостью вегетативных почек и основных тканей, т.к. имели обратимые повреждения до 2,0 баллов. При этом у данных генотипов среднее повреждение получили генеративные почки - 3,0 балла. Результаты искусственного промораживания подтверждаются биохимическим анализом коры побегов изучаемых сортов. Под воздействием низких температур в конце декабря у абрикоса Гибридным №2 из Красноярска отмечается низкое содержание МДА (малоновый диальдегид) и гидроперекисей по сравнению с другими изучаемыми генотипами, что говорит о большей устойчивости к гипотермии этой формы.

Способность абрикоса сохранять устойчивость к гипотермии в период оттепелей имеет большое значение, т.к. затяжные оттепели зимой участились в последнее время. Морозостойкость вегетативных почек и тканей после трехдневной оттепели 2˚С при снижении температуры до -17˚С в феврале (III компонент зимостойкости) проявляют все изучаемые генотипы абрикоса. Различную устойчивость к гипотермии проявляют генеративные почки у изучаемых генотипов. Наибольшую морозостойкость генеративных почек при этом проявил Гибридный №2 из Красноярска.

Растения абрикоса в марте во время продолжительных оттепелей выходят из вынужденного покоя и могут повредиться возвратными морозами. При воздействии температурой -25˚С после трехдневной оттепели 2˚С и повторной закалки (IV компонент зимостойкости) форма Гибридный №2 из Красноярска проявила наибольшую морозостойкость вегетативных почек и тканей (до 2,0 баллов), среднюю морозостойкость вегетативных почек и тканей проявляет генотип Кунач. Орловчанин проявил также среднюю устойчивость вегетативных почек (3,0 балла), но ткани у сорта имели обратимые повреждения до 2,0 баллов. Форма Байкалов 6-47 проявила низкий уровень устойчивости к возвратным морозам, т.к. вегетативные почки погибли, и кора сильно повредилась.

Таким образом, по результатам искусственного промораживания наибольший уровень зимостойкости проявляет генотип абрикоса Гибридный №2 из Красноярска. Средний уровень зимостойкости проявляют генотипы селекции ВНИИСПК Кунач и Орловчанин.

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О СТРОЕНИИ МЕМБРАН

An up to date concept for membrane structure

Озолина Н.В., Нестеркина И.С.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия; ozol@sifibr.irk.ru

Интенсивное изучение строения биологических мембран привело к пониманию того, что клеточные мембраны не являются однородными структурами. По современным представлениям, биологические мембраны могут содержать в своем составе различные липид-белковые микродомены, которые отличаются по многим характеристикам. Что это за микродомены, сколько их и какие они выполняют функции в настоящее время не известно. Наиболее изучены микродомены для выделения которых используются детергенты. Они получили название рафтов. Отличительные особенности этих структур связаны с определенным биохимическим составом и биофизическими характеристиками. Классическое определение рафтов характеризует их как микродомены клеточных мембран, в которых вокруг определенных белков возникают обогащенные сфинголипидами и стеринами области, где липиды находятся в жидко-упорядоченном фазовом состоянии. Это небольшие (10-200-500 нм) гетерогенные, высокодинамичные структуры, стабилизированные через белок-белковые и белок-липидные взаимодействия. Рафты, выделенные из разных мембран, могут отличаться по липидному и белковому составу. Белковая часть рафтов представлена аквапоринами, АТФ-азами, кавеолином, G-белками, протеинкиназами и может существенно различаться. Липидная составляющая является более консервативной. По определению в ней должны преобладать определенные группы липидов, прежде всего стерины, сфинголипиды, церамиды. Но их состав и соотношение также может подвергаться определенным изменениям. Модификация липидной составляющей рафтов отражается на биофизических параметрах, таких как текучесть, ригидность, пластичность. Помимо биофизических особенностей различие в составе липидов оказывает влияние и на функции микродоменов, поскольку входящие в них липиды могут выступать в качестве первичных и вторичных мессенджеров в процессах молекулярного распознавания и сигнальной трансдукции.

Большой интерес к исследованию рафтов связан с тем, что они могут участвовать в регуляции метаболических процессов в клетке, влиять на активность входящих в состав рафтов ферментов, осуществляющих процессы транспорта, принимают активное участие во многих жизненно важных процессах, таких как экзо- и эндоцитоз, деление, поляризация, внутриклеточная передача сигналов, сортировка и доставка белков и др.. В настоящее время рафты обнаружены в плазматической мембране, мембранах эндоплазматического ретикулума, аппарата Гольджи и митохондрий. Изучение рафтов в клеточных мембранах растений начато сравнительно недавно, в основном на плазмалемме. Нами впервые было показано присутствие рафтов на вакуолярной мембране и частично охарактеризован их липидный состав.

Наиболее распространенным является детергентный способ выделения этих микродоменов, однако использование детергентов вызывает большие сомнения в нативности выделенных мембранных структур, так как может приводить к артефактам. Поэтому для выделения микродоменов кроме детергентного были разработаны более мягкие, бездетергентные методы с использованием либо соникации, либо ингибиторных коктейлей. В настоящее время большая часть исследователей склоняется к тому, что необходимо использовать только эти методы. Полной ясности в этом вопросе нет. В ряде экспериментов на мембранах животных, в которых проводилось сравнение биохимических характеристик микродоменов, выделенных детергентным и бездетергентным методами, исследователи пришли к заключению, что и при бездетергентном выделении они имеют дело с разными типами рафтов. Эти выводы были основаны на результатах биохимических исследований, которые показали, что и при бездетергентном выделении микродомены отвечали основным требованиям, предъявляемым к рафтам: были обогащены стеринами и сфинголипидами и обладали высоко-упорядоченным фазовым состоянием. Проведенное нами сравнительное исследование по выделению микродоменов детергентным и бездетергентным методом привело к другим результатам. Бездетергентно выделенные микродомены по биохимическим характеристикам заметно отличались от выделенные с Тритоном Х-100 и по определению отнести их к рафтам не представляется возможным. Можно предположить, что в вакуолярной мембране при использовании разных подходов мы имеем дело с разными микродоменами, присутствующими одновременно и обладающими разной функциональной нагрузкой. В тоже время нельзя исключить возможность того, что мы имеем дело с одним типом микродоменом, но негативное влияние Тритона Х-100 привело к изменению биохимических характеристик, которые были обнаружены в наших исследованиях.

РОСТ И МОРФОГЕНЕЗ ПРОРОСТКОВ ОГУРЦА И РЕДИСА В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO* В УСЛОВИЯХ ПОВЫШЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ $CoCl_2$

Growth and morphogenesis of young *Cucumis sativus* and *Raphanus sativus in vitro* at increased concentration of $CoCl_2$

Омарова З.А.

Дагестанский государственный университет, Махачкала, Республика Дагестан, Россия
z_abakarova@mail.ru

Большая часть тяжелых металлов, в том числе и Со, необходима в микродозах для нормального функционирования растений. Избыток микроэлементов в среде способствует их накоплению в растениях, что оказывает негативное влияние на рост, развитие и продуктивность растений. Задача исследования - изучение начальных этапов роста и морфогенеза растений огурца (сорта Пальчики и Феникс) и редиса (сорта «18 дней» и Французский завтрак) при избытке Co^{2+}, для выявления чувствительных показателей (тест-функций) и оценки перспективы их использования для биотестирования.

Предварительно провели тестирование объектов в нестерильной культуре на очищенном кварцевом песке, в который внесли 30, 90, 150 и 210 мг/кг $CoCl_2$ (с содержанием 14, 41, 68 и 96 мг/кг Co^{2+} соответственно). 30 и 90 мг/кг $CoCl_2$ – в диапазоне фонового и верхнего предела допустимого содержания соответственно, а 150 и 210 мг/кг - выше ПДК. Токсичность избытка Co^{2+} оценивали по ряду тест-откликов: влиянию на энергию прорастания (ЭП), всхожесть семян, прирост (мм) гипокотиля (Г), семядолей (С) и главного корня (ГК), накопление биомассы наземной части (НЧ) и корней (К) проростков. Всхожесть и ЭП семян определяли по общепринятым методикам (ГОСТ12039–82 и ГОСТ12038–84).

У огурцов в условиях повышенного содержания Co^{2+} (150 и 210 мг/кг) отмечено угнетение прироста линейных размеров Г и ГК и накопления биомассы, особенно сырой. При этом между значениями сухой и сырой биомассы не отмечено корреляции. На приросте в длину С проростков огурца избыток Co^{2+} практически не отразился. Несмотря на специфику по отдельным тест-откликам, в целом у обоих сортов огурца чувствительными оказались накопление сухой биомассы К, прирост длины Г и ГК, ЭП и всхожесть семян, а пороговые концентрации - в диапазоне 90-150 мг/кг $CoCl_2$.

У редиса в нестерильных условиях чувствительными к избытку $CoCl_2$ тест-функциями были накопление сухой биомассы К, энергия прорастания и всхожесть семян, а пороговым – 90 мг/кг.

Для культивирования *in vitro* отобрали огурцы с. Феникс и редис с. «18 дней», как более чувствительные. В среду Мурасиге и Скуга (МС) дополнительно вносили $CoCl_2$ с содержанием Co^{2+} в количестве 160, 190 и 220 мг/л. Семена предварительно замачивали в течении 4 часов, стерилизовали в 10% растворе H_2O_2 в течение 10 мин и проращивали на питательной среде по МС. Замеры линейных размеров и биомассы проводили на 15 сут.

Избыток Co^{2+} (160-220 мг/л) на фоне среды МС способствовал прорастанию семян и накоплению *сухой* биомассы проростков, особенно их НЧ, но при этом оказывал выраженный негативный эффект на другие показатели прироста. Так, у проростков редиса с повышением с уровня Co^{2+} в среде МС возрастает степень угнетения прироста в длину ГК и накопления сырой биомассы проростков (НЧ и К). Достоверных различий между показателями прироста линейных размеров НЧ по вариантам с разным уровнем Co^{2+} с не отмечено.

Когда остальные тест-отклики оказывались менее информативны, негативное влияние избытка Co^{2+} удобно количественно оценивать по степени нарушения пропорционального роста, т.е. по изменению величины коэффициента полярности, соотношения НЧ и К. Этот показатель можно использовать в комплексе с другими традиционными параметрами оценки токсичности среды. По преобладающему числу параметров роста редис оказался чувствительнее к избытку Co^{2+} и перспективнее в качестве тест-объекта.

ВЛИЯНИЕ НАНОБИОСЕРЕБРА НА УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ К ВОДНОМУ СТРЕССУ

Effect of nanobiosilver on wheat resistance to water stress

Омельченко А.В., Юркова И.Н.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
omelchenko_tnu@mail.ru

Повышение урожайности в условиях недостатка влаги является актуальной задачей физиологии растений. В настоящее время в растениеводстве широко применяются препараты, позволяющие нивелировать последствия действия стрессовых факторов. Для решения данной проблемы большое значение приобретают биогенные металлы в коллоидном состоянии (наночастицы). Наночастицы воздействуют на биологические объекты на клеточном уровне, внося свою избыточную энергию, повышающую эффективность протекающих в растениях процессов, обладают пролонгированным действием, а также участвуют в процессах микроэлементного баланса.

Одним из способов повышения урожайности в стрессовых условиях может являться предпосевная обработка семян наночастицами серебра. В связи с этим, целью настоящей работы было исследование влияния предпосевной обработки семян нанобиосеребром на устойчивость растений озимой пшеницы к водному стрессу.

Объектом для проведения исследований служила озимая пшеница (*Triticum aestivum* L.) сорта Подолянка. Водорастворимую нанобиокомпозицию серебра получали в матрице полисахарида альгината, восстанавливающего ионы серебра и стабилизирующего наночастицы. В качестве фактора, имитирующего стресс при засухе, использовали полиэтиленгликоль (ПЭГ) с молекулярной массой 6000.

Семена перед посевом обрабатывали раствором нанобиосеребра в концентрации 200 мг/л с прилипателем методом инкрустации, затем высушивали и проращивали в чашках Петри на фильтровальной бумаге, увлажненной дистиллированной водой при 24°С в течение 3 сут в термостате. После этого проростки переносили на питательную среду Хогланда-Арнона, содержащую раствор ПЭГ 6000 в концентрации 5%. Контролем служили семена без обработки нанобиосеребром. Растения выращивали в течение 7 сут при 12 ч световом периоде, освещенности 3,5 клк, температуре воздуха 25°С и его относительной влажности 60%. Влияние нанобиосеребра на растения в условиях водного стресса определяли по показателям ростовых процессов (длина и площадь листовой поверхности, масса сухого вещества корней и надземной части) и водного обмена (интенсивность транспирации и оводненость листьев).

Установлено, что в условиях водного стресса у проростков озимой пшеницы, семена которой были обработаны нанобиосеребром, наблюдалось увеличение линейных размеров листьев, массы сухого вещества корней и надземной части по сравнению с необработанными. При этом было показано, что длина листьев увеличилась на 21,9%, площадь листовой поверхности на 10,8%, масса сухого вещества надземной части и корневой системы на 18,9% и 27,4% соответственно против контрольного варианта.

Одним из важных параметров, характеризующих водный обмен растений в условиях засухи является интенсивность транспирации и содержание воды в листьях. Под влиянием нанобиосеребра в условиях водного стресса отмечалось повышение интенсивности транспирации на 59,4%, а содержание воды - на 5,2% по сравнению с растениями, выращенными без обработки семян.

Таким образом, исследования показали, что предпосевная обработка семян озимой пшеницы нанобиосеребром в концентрации 200 мг/л оказывало положительное влияние на ростовые процессы и показатели водного обмена растений пшеницы в условиях водного стресса.

ВЛИЯНИЕ НЕФТЕГАЗОДОБЫЧИ НА ИЗМЕНЕНИЕ МИНЕРАЛЬНОГО ОБМЕНА РАСТЕНИЙ УРЕНГОЙСКОЙ ТУНДРЫ

Effects of oil and gas production to plants mineral metabolism in Urengoy tundra

Опекунова М.Г., Кукушкин С.Ю., Широков М.Ю.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; m.opekunova@mail.ru

Разработка нефтегазовых месторождений севера Западной Сибири приводит к изменениям химического состава компонентов природно-территориальных комплексов (ПТК), их загрязнению нефтяными углеводородами, Ni, Ba, V, Zn, Cu, Hg и Cd, а также нарушению минерального обмена растений и особенностей их функционирования. Многолетние исследования, проведенные в период с 2003 по 2014 гг. на лицензионных участках 28 нефтегазоконденсатных месторождений (НГКМ) Уренгойской тундры, показали значительное варьирование химического состава растений под влиянием природных и антропогенных факторов. Расчет регионального фона свидетельствует о том, что растения Уренгойского Севера характеризуются низким количеством микроэлементов (МЭ) по сравнению с кларком по В.В. Добровольскому (1998). Только концентрация Pb близка к кларку, а содержание Ba в бруснике *Vaccinium vitis-idaea*, багульнике *Ledum decumbens* и лиственнице *Larix sibirica* в 2,4-8 раз и Mn в багульнике *Ledum decumbens* и в бруснике *Vaccinium vitis-idaea* в 5-6 раз превышают его. В фоновых условиях брусника и багульник отличаются повышенными концентрациями Mn, Zn и Ba, лишайник и лиственница – Pb.

Под влиянием антропогенного загрязнения изменяется минеральный обмен растений, показателем чего являются высокие концентрации тяжелых металлов (ТМ) в биомассе. В тундровых ПТК наиболее чувствительны к повышению уровня содержания поллютантов в окружающей среде лишайник *Cladonia alpestris* и багульник *Ledum decumbens*. Голубика *Vaccinium uliginosum* и брусника *Vaccinium vitis-idaea* характеризуются более стабильным химическим составом и отвечают преимущественно на сильное загрязнение почв. Локальное загрязнение ПТК при проведении буровых работ отражается в повышенной аккумуляции Ba, Cu и Cd в лишайнике *Cladonia alpestris*, а также Ba, Cd, As и Pb в надземной массе кустарничков – багульника *Ledum decumbens,* брусники *Vaccinium vitis-idaea* и голубики *Vaccinium uliginosum*. Их аномальные концентрации установлены в ПТК вблизи карьеров, кустов скважин, перекрестков дорог и указывают на преимущественно аэротехногенное поступление загрязняющих веществ. В долинах рек и на водоразделах, где встречаются лиственничные редины и редколесья, высокие содержания загрязняющих веществ обнаружены в корке лиственницы *Larix sibirica*.

Анализ пространственного распределения концентраций ТМ в растениях исследованных НГКМ свидетельствует о четкой приуроченности аномальных значений к объектам инфраструктуры промыслов. Загрязнение ПТК в результате геологоразведочных работ приводит к увеличению содержания в растениях Ni, Zn, Cu, Pb, Ba и Cd. Максимальные их концентрации обнаружены в пробах, взятых вблизи полигонов буровых отходов и геологоразведочных скважин. Концентрация ТМ в багульнике *Ledum decumbens* и лишайнике *Cladonia alpestris* здесь в несколько раз превышает фоновую величину. Повышенные содержания Sr, Co, Ni, Cd и Ba в лишайнике и багульнике обнаружены вблизи кустов скважин. Вблизи автомобильных дорог и вдоль вездеходных трасс отмечается увеличение содержания Cu, Zn, Ni, Cr. Подсыпка песчаного грунта приводит к накоплению в растениях литогенных элементов Ti, Zr, Y, V.

В настоящее время основное влияние на формирование химического состава растений ПТК севера Западной Сибири оказывают зональные и азональные природные процессы. По результатам факторного анализа в фоновых условиях на территории НГКМ выделяется несколько ведущих процессов, определяющих химизм растений. Первый фактор (42-48%) во всех растениях интерпретируется как породный. С ним положительно связана группа, включающая большинство химических элементов - Zr, Y, V, Cr, Ti, Ba, Co. В лишайнике к ним добавляются Ni и Sr. Более сложный характер влияния подстилающих горных пород наблюдается в карликовой березке *Betula nana*, для которой второй фактор также характеризует минералого-геохимические особенности подстилающих пород. Второй ведущий процесс естественных тундровых ландшафтов (10-13%) отличается положительной связью накопления Pb, Zn и Mn в противовес Cu, Zr и Ti. К последним в багульнике присоединяются Y, Ba, Sr и Ni, в карликовой березке - Ag, а в лишайнике – Cr. Сравнение с факторной структурой почв позволяет рассматривать его как отражение изменения подвижности ТМ при смене минеральных субстратов торфяниками. Устойчивая роль фактора в ландшафте подтверждается постоянным составом химических элементов во всех изученных видах. Около 7% корреляционных связей приходится на ассоциацию элементов, отражающую процесс образования труднорастворимых органоминеральных комплексов Cu и Mn в органогенных горизонтах почв элювиальных фаций.

Антропогенное воздействие на тундровые ПТК в результате нефтегазодобычи проявляется локально. При вводе месторождений в эксплуатацию меняется характер корреляционных связей, количество ведущих факторов и состав ассоциаций химических элементов. Основными показателями техногенеза, наряду с увеличение концентрации Zn, Ba, Pb и Ni в индикаторных видах растений, служат нарушение структуры связей химических элементов в обобщенных факторных нагрузках, изменение состава парагенезисов и увеличение варьирования содержания металлов.

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ РАСТЕНИЙ БАШКИРСКОГО ЗАУРАЛЬЯ И ЕГО ИЗМЕНЕНИЕ ПОД ВЛИЯНИЕМ ПРИРОДНЫХ И АНТРОПОГЕННЫХ ФАКТОРОВ

Chemical composition of plants in the Bashkirian Transural region and it's transformation under the influence of natural and anthropogenic factors

Опекунова М.Г., Сомов В.В., Папян Э.Э., Сокульская Ю.С., Кривоногих Л.Ю

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; m.opekunova@mail.ru

Определяющим фактором аккумуляции тяжелых металлов (ТМ) в растениях служит химизм почв. В районе естественных геохимических аномалий Сибай-Гайской рудоносной зоны почвы характеризуются высоким содержанием серы, Cu, Zn, Cd и Fe. Под влиянием техногенеза их концентрации заметно возрастают. Содержание подвижных форм ТМ в почвах сильно варьирует по годам в связи с изменением погодных условий, а также существенно меняется по профилю геохимического ландшафта. Доля подвижных форм составляет от 0,1% до 3% на фоновых участках и до 24% вблизи промышленных объектов.

Расчет регионального кларка растений (РКР) свидетельствует о повышенном содержании ТМ в наземной растительности (мг/кг сухого вещества): Cu – 13; Zn – 43; Fe – 112; Mn – 39; Ni – 1,3; Pb – 2,1; Co – 0,16. Вместе с тем, аккумуляция ТМ в укосах биомассы значительно изменяется по годам. Наблюдаются различия в концентрации ТМ растениями агроботанических групп – злаков, разнотравья, бобовых, осок, ветоши. На всех участках содержание ТМ в злаках и осоках ниже, чем в разнотравье и ветоши. Ветошь отличается высоким накоплением Zn, Cu, Fe и Cd. В зоне воздействия горнорудных предприятий обнаружено превышение содержания Cu, Zn, Pb и Mn в укосах биомассы в 1,5-2 раза по сравнению с фоном.

Значительные различия в поглощении ТМ наблюдаются в отдельных видах группы разнотравья, отличающихся избирательной аккумуляцией и относящихся к непривычным концентраторам ТМ (шалфей *Salvia stepposa* Schost., чабрец *Thymus marschallianus* Willd., вероника *Veronica incana* L., караганник *Caragana frutex* L., зопник *Phlomis tuberosa* L., тысячелистник *Achilea setacea* Waldst. et Kit., подмаренник *Galium verum* L.). Как правило, содержание ТМ в растениях, произрастающих в фоновых ПТК Сибай-Гайской рудоносной зоны, не превышает РКР. Исключение составляет Fe, концентрация которого в 1,5-2 раза выше фонового значения. Как показал анализ полученных результатов, за период с 1999 по 2014 гг, поглощение ТМ в различных видах растений сильно варьирует: в отдельные годы отмечаются содержание Cu, Zn, Fe, Pb и Cd, значительно превышающее не только кларк по В.В. Добровольскому (1988), но и региональный фон.

За пятнадцатилетний период исследований максимальным содержанием Cu (до 62 мг/кг) среди растений выделяется полынь *Artemisia austriaca*. Средняя концентрация Zn в растениях ПТК естественных геохимических аномалий значительно выше РКР (43 мг/кг). Высокое содержание Zn отмечено в *Artemisia austriaca* (52–154 мг/кг) и *Thymus marschallianus* (50-114 мг/кг). Максимальное содержание Fe установлено у *Thymus marschallianus* и достигает 588 мг/кг, что позволяет отнести этот вид к непривычным концентраторам Fe. В *Artemisia austriaca* в тех же условиях оно близко к РКР и составляет 107 мг/кг. В остальных видах растений его концентрация ниже 65 мг/кг. Содержание Mn в растениях варьирует в широких пределах и составляет от 3,4 мг/кг в *Veronica incana* до 226 мг/кг в *Thymus marschallianus* при среднем значении 80-90 мг/кг, что почти в 2 раза ниже РКР (164 мг/кг). Концентрация Pb в большинстве растений близка к кларку растений по В.В. Добровольскому и изменяется в пределах от 1,2 до 2,0 мг/кг. Увеличение его концентрации до 3,2 мг/кг отмечено в *Thymus marschallianus* и 3,7 мг/кг в *Artemisia austriaca* в иллювиальных фациях.

Сопряженный анализ содержания подвижных форм ТМ в почвах и химизма индикаторных видов растений выявил определяющую роль ландшафтно-геохимических факторов в накоплении ТМ в биомассе. Существует хорошо выраженная изменчивость химического состава растений под воздействием погодных условий – в засушливые годы биогенная аккумуляция ТМ резко снижается. Вместе с тем, прямой корреляции между содержанием подвижных форм ТМ в почвах и уровнем их концентрации в растениях не наблюдается, имеет место временной сдвиг в один-два года в ходе этих показателей. Важную роль в миграции ТМ в системе почва-растение играет микробиологическая активность.

На основе расчета коэффициентов биологического поглощения составлены ряды видов-концентраторов ТМ, рекомендованных для оценки техногенной трансформации ландшафтов. Наибольшей аккумулирующей способностью Cu и Zn на территории естественных геохимических аномалий и в условиях техногенно загрязненных ПТК обладает *Artemisia austriaca*. На модельной площади вблизи оз. Култубан наблюдается превышение РКР по Zn (2 РКР) и Cd (39 РКР), в зоне воздействия Сибайского карьера небольшие превышения РКР фиксируются по Fe, Cu, Zn и значительные - по Pb (2 РКР) и Cd (24 РКР). В зоне воздействия хвостохранилища Сибайской обогатительной фабрики наблюдается высокая аккумуляция ТМ на уровне: Fe – 3 РКР, Cu – 2,5, Pb - 2, Zn – 3, Cd – 26 РКР. Наиболее чувствительными к антропогенному загрязнению видами растений в степной зоне являются: *Artemisia austriaca* – непривычный концентратор Cu, Pb, Cd и Zn; *Thymus marschallianus* – концентратор Zn, Pb и Fe и *Salvia stepposa* – Cu, Zn и Fe.

ПУТИ ТРАНСПОРТА ИОНОВ НАТРИЯ И ХЛОРА В СИСТЕМЕ ЦЕЛОГО РАСТЕНИЯ У ГАЛОФИТА *SUAEDA ALTISSIMA* (L.) PALL.

Sodium and chloride transport pathways in the system of whole plant in the halophite *Suaeda altissima* (l.)Pall.

Орлова Ю.В.[1], Майорова О.В.[1], Халилова Л.А.[1], Мясоедов Н.А.[1], Балнокин Ю.В.[1,2]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; orl-jul@mail.ru*

[2] *Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия; balnokin@mail.ru*

Важную роль в солеустойчивости растений играют механизмы дальнего транспорта ионов (ДТИ), т.е. транспорта в системе целого организма. Остаются не изученными различия в организации ДТИ у солеустойчивых и несолеустойчивых растений. Считается, что солеустойчивые растения обладают способностью избегать накопления Na^+ и Cl^- в молодых тканях и генеративных органах, депонируя эти ионы в частях растений, не несущих большой метаболической нагрузки. Такое представление, однако, слабо обосновано экспериментальными данными. Цель работы состояла в исследовании путей движения ионов в восходящем направлении и мест их депонирования у галофита *S. altissima*. Для этого изучали распределение Na^+ и Cl^- по тканям и вегетативным органам при разных концентрациях NaCl в питательном растворе, измеряли концентрации Na^+ и Cl^- в пасоке при разных уровнях засоления, а также изучали анатомию *S. altissima*. Содержание Na^+ и Cl^- в тканях определяли, используя рентгеновский микроанализатор, совмещенный со сканирующим электронным микроскопом, а также путем определения концентраций этих ионов в водных экстрактах органов: Na^+ – с помощью пламенного абсорбционного спектрофотометра, Cl^- – титрованием ионами ртути. Анатомию изучали с помощью трансмиссионного электронного микроскопа.

Показано, что с увеличением концентрации NaCl в питательном растворе содержание ионов Na^+ и Cl^- в тканях всех органов и в пасоке возрастает. В корне содержание ионов Na^+ и Cl^- выше в коре и эпидерме, чем в центральном цилиндре. При этом ионы Na^+ обнаруживаются в апопласте, а ионы Cl^- – как в апопласте, так и симпласте этих тканей. В корневой шейке, т.е. в зоне перехода от корня к стеблю, содержание ионов Na^+ и Cl^- значительно больше в периферических тканях (вторичная флоэма и экзодерма), чем в тканях, расположенных внутри (камбий, вторичная ксилема и сердцевина). Наибольшее содержание Na^+ и Cl^- в стебле обнаружено в паренхимных клетках сердцевины и наружных тканях (вторичная флоэма, экзодерма). Относительно низкое содержание ионов Na^+ и Cl^- зафиксировано в проводящих элементах ксилемы стебля. Распределение ионов Na^+ и Cl^- по тканям листа также носило дифференциальный характер. Ионов натрия и хлора больше всего содержалось в клетках водоносной паренхимы листа. Ионы Na^+ в значительных количествах накапливались также в фотосинтезирующих тканях, особенно в клетках хлоренхимной обкладки листа. Хлорида в этих клетках содержалось значительно меньше. На основании полученных данных мы предположили, что транспорт Na^+ и Cl^- в восходящем направлении в корне осуществляется как по клеткам коры и эпидермы, так и по элементам ксилемы. При этом ионы Na^+ транспортируются по апопласту, а ионы Cl^- по апопласту и симпласту. Таким образом, ксилема, по-видимому, не является единственным транспортным путем для этих ионов. В корневой шейке ионы Na^+ и Cl^- загружаются во вторичную ксилему и с восходящим током ксилемного сока через стебель попадают в лист. Разгрузка ксилемы осуществляется в водоносной паренхиме листа, откуда Na^+ и ионы Cl^- попадают в разные ткани листа. Основными депо для ионов Na^+ являются клетки сердцевины стебля и клетки хлоренхимной обкладки листа. Основные депо для ионов Cl^- - клетки коры и эпидермы корня, клетки сердцевины стебля и водоносной паренхимы листа. Значительное содержание ионов Na^+ и Cl^- в периферических тканях стебля и корневой шейки можно отнести к транспорту этих ионов в нисходящем направлении по флоэме.

Работа поддержана грантом РФФИ 15-04-04712а.

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ СТРЕССОВ НА УСТОЙЧИВОСТЬ ЯЧМЕНЯ НА ПЕРВЫХ ЭТАПАХ ОРГАНОГЕНЕЗА

The influence of different stresses on the resistance of barley on the first stages of organogenesis

Осипова Л.В., Ниловская Н.Т., Курносова Т.Л., Быковская И.А.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт агрохимии имени Д.Н. Прянишникова», Москва, Россия; legos4@yandex.ru

В серии лабораторных опытов изучали влияние различных видов стрессов на прорастание ярового ячменя в период деэтиоляции – при переходе растений с роста в темноте к росту на свету. В результате проведенных исследований было установлено, что осмотический, солевой стрессы, тяжелый металл кадмий и десикант дикват приводили к развитию в растениях окислительного стресса, который вызывал перекисное окисление липидов мембран и накопление малонового диальдегида (МДА). Содержание МДА в корнях проростков увеличивалось в 1,5-1,7 раза по сравнению с контрольным вариантом и было близким при действии всех изучаемых стрессов, что свидетельствует об одинаковой напряженности окислительного стресса. Реакция ячменя на все стрессы была однотипной – образование хлорофиллов и каротиноидов было заторможено, отмечалось снижение поглощения углекислоты и активности дыхания. Различия в реакции проростков на осмотический стресс, имитирующий засуху, засоление и стрессы, индуцированные кадмием и дикватом, проявились в количественных изменениях показателей. В наибольшей степени формирование фотосинтетических пигментов задерживалось под влиянием засухи и диквата, в наименьшей – при засолении. Кадмий снижал долю хлорофилловых пигментов в светособирающих комплексах фотосистем.

Одинаковые реакции растений на разные виды стрессов предполагают возможность использования единого средства для повышения устойчивости к возникающим в течение вегетационного периода различным неблагоприятным факторам.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РОЛЬ ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ В СИСТЕМЕ ИОННОГО ГОМЕОСТАЗА У ГЛИКОФИТОВ

The functional role of organic acids in ionic homeostasis system of glycophyte plants

Осмоловская Н. Г., Кучаева Л.Н., Ву Вьет Зунг

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; natalia-osm@mail.ru

Одним из фундаментальных свойств растительного организма, определяющих устойчивость его функционирования как целостной биологической системы, является гомеостатирование ионного состава цитозоля растительной клетки в определенных физиологических пределах. Важнейшим элементом системы ионного гомеостатирования у гликофитов является участие в ней органических кислот, биологическое значение которых связывают, прежде всего, с их ролью фотосинтетических интермедиатов и предшественников в биосинтезе аминокислот, с участием в процессах адаптации растений к стрессовым факторам, включая дефицит питательных элементов (P, Fe) и присутствие тяжелых металлов (Al) в среде, а также в растительно-микробных взаимодействиях. Но не менее важной является роль органических кислот в регуляции осмотического потенциала и катион-анионного баланса в клетках растений. В наших исследованиях основное внимание было уделено исследованию вклада органических кислот в процессы ионного гомеостатирования в надземных органах гликофитных растений различной видовой и экологической принадлежности (фасоль, томат, амарант) на разных этапах их онтогенеза. Вопросы оценки функциональной роли органических кислот цикла ДТК и оксалата в формирование ионного гомеостаза у растений рассматриваются в связи с воздействием таких факторов, как форма азотного питания, обеспеченность растений минеральными катионами и хлоридное засоление в условиях водной гидропонной культуры. Результаты исследования свидетельствуют в пользу формирования цитозольного и вакуолярного пулов карбоксилатов в клетках листа растений, при этом вклад последнего в обеспечение ионного гомеостаза цитозоля возрастает в онтогенезе листа. Установлено, что ионный гомеостаз цитозоля паренхимных клеток ювенильного листа определяется формированием метаболически активного пула карбоксилатов при ведущей роли калий-карбоксилатной системы. В онтогенезе листа продукция органических кислот сверх гомеостатируемого цитозольного уровня, во многом зависящая от условий N питания (NO_3^-, NH_4^+, -N), сопровождается экспортом органических анионов в вакуоль, что может стать сигналом для усиления притока минеральных катионов, вовлекаемых в процессы ионного гомеостатирования в листе, и формированием запасных фондов карбоксилатов. На основании данных хроматографического анализа дается качественная и количественная оценка пулов органических кислот в листьях растений разной видовой принадлежности. Отмечается, что в условиях снабжения нитратом формирование значительных пулов органических кислот в листьях гликофитов обусловлено их участием в компенсации заряда катионов, транспортируемых в листья совместно с анионом NO_3^-, ассимиляция которого определяет запрос на органические анионы для поддержания общего ионного баланса в клетках листа. При этом ион $N0_3^-$ выступает как важнейший регуляторный фактор формирования пулов карбоксилатов и их участия в системе ионного гомеостаза посредством воздействия на синтез кислот через работу биохимического pH-стата цитозоля. Нитрат рассматривается также как сигнал, усиливающий световую активацию протеинкиназ листа, что, в свою очередь, ведет к увеличению активности ФЕП-карбоксилазы в направлении формирования малата и его транспорта в вакуоль. Установлено, что участие органических кислот в ионном гомеостаза листьев снижается при замещении нитратного азота на аммонийный в большей степени, чем в случае отсутствия азота в среде, что обусловлено как усилением их оттока в корни в качестве углеродных скелетов для обеспечения ассимиляции поглощаемого аммония, так и возрастанием притока в листья минеральных анионов (хлорид, сульфат или фосфат), участвующих в поддержании дальнего транспорта катионов. Итогом являются глубокие различия в карбоксилатном индексе или соотношении минеральных и органических анионов в листьях гликофитов: при нитратном питании этот показатель существенно <1 и у многих видов варьирует в пределах 0,2-0,4, при аммонийном он > 1, достигая 2,0-2,4. Предполагается, что востребованность в отдельных катионах при формировании ионного гомеостаза на разных этапах онтогенеза листа у исследованных гликофитов в значительной степени обусловлена природой продуцируемых в растениях органических кислот, и, таким образом, контролируется генотипическими особенностями углеродного метаболизма. Проблема организации ионного гомеостаза в листьях гликофитов на разных этапах их онтогенеза рассматривается также с позиции формирования в вакуоли функционально различающихся пулов карбоксилатов: подвижного, легко мобилизуемого запасного пула органических кислот, уравновешенного калием, и мало подвижного компенсационного пула, формируемого при участии кальция и магния. Дается оценка взаимосвязанности обмена органических кислот в листьях гликофитов с процессами минерального обмена в растении. Анализируются видоспецифические особенности формирования пулов карбоксилатов (ДТК, оксалат) и минеральных солей у растений с разными типами обмена органических кислот в условиях парциальных дефицитов нитрата и катионов (K^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}). Заключается, что создание условий, удовлетворяющих запросам на формирование вакуолярных пулов карбоксилатов и оптимизации соотношения пулов минеральных и органических солей в листьях гликофитов, является существенным фактором поддержания интенсивного роста и продуктивности растений.

ДИНАМИКА ИНТЕНСИВНОСТИ ФОТОСИНТЕЗА И РОСТОВЫХ ПРОЦЕССОВ У РАСТЕНИЙ ОГУРЦОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ БИОГУМУСА

Dynamics of the intensity of photosynthesis and growth processes in cucumber plants under the influence of biohumus

Отурина И.П., Подоляк Д.И.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
irina.oturina@mail.ru

В настоящее время все острее становится проблема по восстановлению первоначального плодородия почвы, исключению или максимальному ограничению разрушительных воздействий на сельскохозяйственные культуры химических агентов. Одно из актуальных направлений органического земледелия, в рамках которого проводится минимизация использования синтетических удобрений, пестицидов, регуляторов роста, – применение органических удобрений, в частности, биогумуса (вермикомпоста) – органического удобрения, продукта переработки отходов сельского хозяйства дождевыми червями и бактериями. Питательные вещества биогумуса, хорошо сбалансированные по водорастворимым формам азота, фосфора, калия, микроэлементам, постепенно растворяясь, обеспечивают длительное потребление их корнями растений, вследствие чего улучшается структура почвы, ее основные агрохимические показатели, что в комплексе значительно повышает урожайность сельскохозяйственных культур.

Проведены исследования по изучению влияния биогумуса, полученного при вермикомпостировании *Eisenia fetida* птичьего помета с добавлением соломы, на прорастание семян, динамику ростовых процессов сеянцев, накопление углерода органических веществ и интенсивность фотосинтеза в растениях огурцов сорта Джерело и гибрида Родничок. Семена огурцов проращивались в термостате при 20-30°С на фильтровальной бумаге, смоченной почвенной вытяжкой (контроль), а также вытяжками из биогумуса и из смеси биогумуса и почвы в соотношениях 1:1, 1:5, 1:10. Динамика роста сеянцев изучалась в лабораторно-вегетационном опыте при выращивании их в почвенной культуре (контроль), биогумусе (без добавления почвы) и в смеси биогумуса и почвы в соотношениях 1:1, 1:5, 1:10.

Установлено, что компоненты биогумуса стимулировали прорастание семян, что выражалось в достоверном увеличении значений показателей, характеризующих данный процесс (энергия прорастания, скорость и дружность прорастания). Всхожесть семян огурцов возросла в среднем на 14-16% по сравнению с контрольным вариантом (p 0,05).

При выращивании сеянцев огурцов в почвенной культуре с добавлением биогумуса наблюдалось ускорение роста всех вегетативных органов. Значения морфометрических показателей (высоты растений, длины корней, массы сырого и сухого вещества) в опытных вариантах увеличились в среднем на 12-23% по сравнению с контролем. Наибольший ростстимулирующий эффект вермикомпоста отмечен в варианте биогумус:почва, 1:10**.**

Активация ростовых процессов сеянцев огурцов основана на возрастании скорости пластического обмена, в частности, интенсификации фотосинтетической функции. На фоне биогумуса в листьях 45-дневных растений огурцов содержание ассимилированного углерода органических веществ и интенсивность фотосинтеза повышались в среднем на 23,7 и 28,8% соответственно по сравнению с контролем, причем гибрид Родничок был более отзывчив на присутствие биогумуса, чем сорт Джерело.

Растения, выращенные в почвенной культуре с добавлением биогумуса, не имели признаков поражения фитопатогенами, быстрее накапливали биомассу и переходили в фазу цветения на 3 дня раньше, чем контрольные.

Таким образом, выращивание сеянцев огурцов в почвенной культуре с добавлением биогумуса позволяет оптимизировать продукционный процесс растений в условиях закрытого и открытого грунта за счет активации процесса фотосинтеза, что позволяет получить экологически чистую продукцию высокого качества.

РЕАКЦИЯ РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ НА ОБЛУЧЕНИЕ УФ-В РАДИАЦИЕЙ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ АЗОТНОГО ПИТАНИЯ

Response of barley plants on exposure to UV-B radiation under different conditions of nitrogen nutrition

Панова Г.Г., Канаш Е.В., Синявина Н.Г., Аникина Л.М., Хомяков Ю.В., Осипов Ю.А., Ктиторова И.Н.

ФГБУН «Агрофизический научно-исследовательский институт», Санкт-Петербург, Россия; gpanova@agrophys.ru

Оценка и прогноз последствий глобального изменения климата, включая действие повышенных уровней УФ-В радиации на агро- и экосистемы, является одним из приоритетных направлений исследований мировой науки. При этом большое внимание уделяется изучению опосредованного воздействия УФ-В радиации на растения и экосистемы с целью познания механизмов их адаптации к данному и сопутствующим стрессовым факторам, и поиску путей повышения стрессоустойчивости фитоценозов. Ранее нами показана зависимость устойчивости зерновых культур, подвергшихся облучению высокоинтенсивной УФ-В радиацией, от уровня содержания основных минеральных элементов в почве. Цель работы состояла в исследовании влияния УФ-В радиации на яровой ячмень и сопутствующие микроорганизмы и оценке роли различных форм азотного питания в формировании устойчивости растений к действию данного стрессора. Исследования выполнялись в регулируемых условиях на биополигоне ФГБНУАФИ. Объектом исследования служили растения ярового ячменя сорта Белогорский. Растения выращивали в в вегетационных светоустановках в сосудах с аэрируемыми питательными растворами, различающимися по форме азотного питания. Источники света - лампы ДНаТ-400, интенсивность светового потока в области ФАР – 80-90 Вт/м^2, фотопериод - 16 ч. Температура воздуха – 18-22°С. Растения в фазе кущения облучали УФ-В радиацией (2 кДж/м^2). На 3-й день после облучения измеряли биофизические параметры корней и спектры отражения листьев ячменя; определяли численность микроорганизмов на корнях растений и в растворе. На 7-й день после облучения проводили биометрические измерения и оценку продуктивности растений.

Результаты исследования показали, что нетто-продуктивность растений снижалась в условиях нитратного и смешанного нитратно-аммонийного питания, увеличивалась в условиях аммонийного питания относительно фоновых значений. В отсутствие облучения наименьшие темпы роста побегов и корней ячменя наблюдали на растворе с NH_4^+, что может быть связано с избыточной генерацией протона при ассимиляции аммония (Скобелева с соавт., 2011). В растворе с NH_4^+ и NO_3^- скорость роста побегов и корней была максимальной как в благоприятных условиях, так и при действии стрессора. Это может быть связано с оптимизацией протонного баланса при использовании разных форм азота, а также с усилением устойчивости ячменя к окислительному стрессу в присутствии NH_4^+. Так, увеличение продольной растяжимости в зонах роста придаточных корней ячменя при выращивании в растворе с NH_4^+ указывает на стимуляцию роста придаточных корней на 3-й день после УФ-В облучения, что можно рассматривать как одну из адаптивных реакций, ведущую к накоплению сухой массы корней. Чувствительным индикатором состояния фотосинтетического аппарата листьев является индекс светорассеяния PRI, который увеличивается при стрессе, указывая на усиление тепловой диссипации световой энергии. Данные исследований показывают, что тепловая диссипация световой энергии минимальна в растворе с NH_4^+. Это объясняет стимуляцию накопления сухой массы ячменя при действии УФ-В радиации на фоне раствора с NH_4^+ и указывает на эффективную защиту от окислительного стресса в этих условиях. Защитный эффект аммонийного питания при действии УФ-В радиации может быть связан с такими процессами, сопутствующими ассимиляции аммония, как: активация фотодыхания (Guo et al., 2007), относительное закисление цитозоля (Скобелева с соавт., 2011) накопление протекторных соединений фенольной природы, pH-зависимое усиление синтеза γ-аминомасляной кислоты (ГАМК), активация ГАМК-шунта (Bouche, Fromm, 2004) и глутаматдегидрогеназного шунта (Miflin, Habash, 2002).

Важную роль в повышении устойчивости к УФ-В индуцированному стрессу может играть и взаимодействие растений с сопутствующими микроорганизмами. На третьи сутки после облучения УФ-В радиацией растений ячменя отмечается подавление деятельности доминирующих по численности групп микроорганизмов (протеолитические, амилолитические, азотфиксирующие бактерии) в водном растворе, в растворах с нитратной и аммонийной формой азотного питания, а также на корнях в водном растворе и растворе с нитратной формой питания. Противоположная картина наблюдается в варианте с нитратно-аммонийной формой питания в растворе и на корнях, а также в варианте на корнях с аммонийной формой азотного питания. Вероятно, в условиях окислительного стресса потребности растений в аммонийном азоте возрастают, и при наличии его в среде не возникает конкурентных взаимоотношений за данный источник азота между растениями и микроорганизмами. Сделанные по микробиологическим данным заключения об изменении содержания нитратного и аммонийного азота в растворах после облучения растений УФ-В радиацией подтверждаются результатами химического анализа растворов.

Полученные результаты послужат основой для выявления механизмов устойчивости растений в условиях УФ-В индуцированного стресса, разработки эффективных биофизических методов экспресс-диагностики состояния растений и рекомендаций по проведению агротехнологических мероприятий в зависимости от складывающихся условий в регионе возделывания.

ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СТАРЕНИЯ ЛЕПЕСТКОВ АЛЬСТРОМЕРИИ

Cytological aspects of alstroemeria petals aging

Панфилова О.Ф., Пильщикова Н.В.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева», Москва, Россия
panfilova.of@yandex.ru

Современное цветоводство характеризуется постоянно возрастающими требованиями покупателей к качеству цветочной продукции и ее разнообразию. Существенной частью мирового рынка цветов в последние годы становиться альстромерия. Созданы гибриды с разнообразной окраской цветков. Проблемой качества является продолжительность жизни цветов в вазе. Цветы в отличие от семян и запасающих органов не имеют генетически закрепленной способности жить вне связи с материнским организмом. Неблагоприятными последствиями нарушения целостности растения являются нарушения водного обмена, изменение гормонального баланса и метаболизма. Ускоренное старение лепестков является основной причиной утраты декоративных качеств срезки. Изучение этих процессов на клеточном уровне позволит целенаправленно вести селекционный процесс и разрабатывать способы продления жизни цветов в вазе.

Работа проведена на перспективных гибридах Virginia, Cosmo, Tornado с белой, желтой и красной окраской лепестков. Развитие цветка альстромерии от бутона до опадения лепестков при легком прикосновении делится на 7 стадий и происходит в течение 10-12 дней. Срезку цветов проводят на 2-3 стадии, когда цветок открывается и три тычинки верхнего круга изгибаются вверх. Для характеристики изменений состояния клеток по мере развития и старения цветка определяли индекс стабильности мембран по выходу электролитов в деионизированную воду. Установлено, что индекс стабильности мембран мало изменялся до 4-ой стадии развития цветка и составлял примерно 80%, к 5 стадии развития цветка происходит резкое нарушение избирательной проницаемости мембран, и к 6-ой стадии индекс стабильности снижается до 35%. У опадающих лепестков индекс стабильности мембран снижается уже незначительно. Белые лепестки у Virginia не отличались по стабильности мембран на соответствующих стадиях развития цветка, но 4-ая, фактически переломная в развитии, происходит на 2-3 дня раньше. Virginia характеризуется и меньшим временем сохранения декоративных качеств. Определение активности антиоксидантных ферментов показало, что активность каталазы постепенно снижается по мере развития цветка. Активность пероксидазы в 1,5-2,8 раза возрастала на 4 этапе развития цветка, при этом более существенное увеличение активности фермента наблюдалось у Virginia. По мере развития и старения цветка происходило изменение окраски лепестков. На белых лепестках Virginia после 4 стадии появлялись прозрачные пятна. Опадали целиком прозрачные лепестки. Цвет лепестков Cosmo, Tornado усиливался до 3-4 стадии. Особенно это было заметно на красных лепестках Tornado. Это может быть связано с усилением интенсивности защитных окислительных процессов, в которых существенную роль играют обеспечивающие окраску цветков каротиноиды и флавоноиды. Для окраски антоцианов большое значение имеют pH, взаимодействие с другими пигментами и танинами. Биохимические изменения, направленные на поддержание гомеостаза цветков, лишившихся связи с материнским растением, могли быть причиной изменения окраски. Старение лепестков после 4 стадии сопровождалось разрушением пигментов. Лепестки Cosmo равномерно по всей площади и постепенно снижали интенсивность окраски, что связано с разрушением каротиноидов и хромопластов. У основания ярко красных лепестков Tornado на 4 стадии появились белые пятна, размеры которых в дальнейшем быстро увеличивались. Это может свидетельствовать о нарушении тонопласта и вакуолей клеток, содержащих антоцианы. Изученные гибриды характеризовались разной реакцией на тиосульфат серебра. Наблюдалось положительное действие на замедление старения цветков Virginia и Tornado, что свидетельствует о их более высокой этилен чувствительности по сравнению с Cosmo. Сульфосалициловая кислота и бензоат натрия в вазовом растворе задерживали старение цветков на 3-5 дней. Это может быть связано с блокированием активных форм кислорода и перекисного окисления липидов, что могло обеспечить лучшее сохранение мембранных структур клетки. 1% раствор сахарозы несколько ускорил развитие цветков и усилил накопление пигментов, но после 4 стадии не наблюдалось его действия.

Анализ литературы и наших экспериментальных данных позволяет заключить, что реализация программы старения в клетках начинается с момента раскрытия цветка. В период старения возросший уровень АФК связан не только с повышенным образованием радикалов, но и с потерей компенсаторной функции антиоксидантных систем. При этом АФК могут иметь значение как для этилен чувствительных, так и нечувствительных цветков. Резкое снижение стабильности мембран к окончанию формирования зародышевого мешка свидетельствует об аутофагном типе смерти клеток лепестков. Понимание механизмов регуляции клеточной гибели имеет важное практическое значение для разработки путей длительного сохранения качества цветочной продукции.

ОБНАРУЖЕНИЕ ЖЕЛЕЗОСОДЕРЖАЩЕГО БЕЛКА ФЕРРИТИНА В КЛЕТОЧНЫХ ЯДРАХ *MESEMBRYANTHEMUM CRYSTALLINUM,* ВЫРАЩЕННЫХ ПРИ ВЫСОКОМ СОДЕРЖАНИИ ЖЕЛЕЗА И ЗАСОЛЕНИИ

Detection of iron-containing protein ferritin in cellular nuclei *Mesembryanthemum crystallinum*, grown at high content of iron and salinization

Парамонова Н.В.

ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия
paranva@mail.ru

Поглощение, транспорт и накопление Fe в растении регулируются таким образом, чтобы предотвратить как дефицит, так и токсичность этого минерала, обеспечивая тем самым оптимальное развитие растений. Подобно другим переходным металлам избыток растворимого Fe может вызывать окислительный стресс. Токсичность Fe связана с его способностью переходить из окисленной формы (Fe^{3+}) в восстановленную (Fe^{2+}) и образованием свободных радикалов O_2, которые повреждают клетки. Одним из способов детоксикации избытка Fe является образование железосодержащего белка - ферритина (Ф). Молекула Ф состоит из центрального ядра (5-8 нм), в котором располагается Fe, и окружающей его оболочки (2-3 нм). До недавнего времени считалось, что Ф в растениях обнаруживается исключительно в пластидах высших растений. Однако позднее стали появляться работы, в которых Ф отмечался в цитоплазме, митохондриях. Локализация Ф в митохондриях была подтверждена иммуноцитохимией на органеллах, изолированных из клеток стебля гороха (Zacani et al., 2004), а также посредством электронной микроскопии листьев *Mesembryanthemum crystallinum* (Парамонова и др. 2004, 2007; Парамонова, 2013). В данной работе исследовались клеточные ядра на предмет присутствия в них ферритина в условиях повышенной концентрации железа и засолении.

Растения хрустальной травки в возрасте 6-ти недель разделили на 2 группы. Контрольная группа продолжала расти еше 3 недели на среде, содержавшей 6 мкМ Fe^{+3}, другой группе концентрацию железа в питательной среде повысили до (100 мкМ Fe^{3+}) – вариант 2. Через 3 недели половине растений контрольного и опытного вариантов в течение 3-х дней вносили по 100 мМ NaCl. Эти группы растений и те, которые не обрабатывались NaCl, росли еще 5 дней до фиксации.

Как показали исследования, при сравнении растений выросших при 6 мкМ Fe^{+3} и при 100 мкМ Fe^{3+} Ф в ядре наблюдался только при повышенной концентрации Fe. Аналогичная картина наблюдалась и при добавлении к этим вариантам NaCl. Если сравнивать друг с другом одинаковые по концентрации Fe, но разные по засолению варианты, то при 6 мкМ Fe^{+3} Ф не наблюдался в обоих счучаях, а при 100 мкМ Fe^{3+} Ф отмечался в обоих вариантах без NaCl и с NaCl. В последних двух вариантах Ф в виде отдельных электронноплотных гранул наблюдался около наружной мембраны оболочки ядра, в нуклеоплазме и в области хроматина. Последний в таких участках выглядел значительно темнее по сравнению с нормальным хроматином без Ф. В клетках с ядерным Ф хлоропласты и митохондрии были также заполнены Ф. Гранулы сходные по плотности с Ф отмечались также на тонопласте небольших вакуолей. В ядрышках клеточных ядер также отмечались участки, которые из-за гранул Ф выглядели значительно темнее.

Многие исследователи, наблюдавшие ядерный ферритин у млекопитающих, считают, что он связывает и защищает ДНК от окислительного повреждения. Роговичные эпителиоциты, у которых была блокирована экспрессия ядерного ферритина, показывали пятикратное увеличение расщепления, распада ДНК (Cai et al., 1998).

РОЛЬ ТЕМПЕРАТУРНОГО ФАКТОРА В ПЕРИОД ПЕРЕХОДА НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ХВОЙНЫХ В СОСТОЯНИЕ ЗИМНЕГО ПОКОЯ

The role of temperatures in transition to winter dormancy in conifers

Пахарькова Н.В., Михальчук Я.П.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Сибирский федеральный университет», Красноярск, Россия; nina.pakharkova@yandex.ru

Изучение сезонной динамики различных физиологических функций древесных растений представляет значительный интерес, как в теоретическом, так и в практическом плане, поскольку помогает, с одной стороны, глубже понять природу процессов, лежащих в их основе, а с другой - оценить влияние на них окружающей среды. Вопрос о влиянии изменения климата на древесные растения был поднят давно, и в средних и высоких широтах это явление становится все более заметным, проявляясь, в том числе, в изменении сроков вегетации. Быстрые изменения климата могут значительно влиять на метаболизм древесных растений, скорость прохождения фенофаз, сроки роста и размножения. Одним из проявлений такого воздействия является уменьшение глубины зимнего покоя растений, что приводит к преждевременному выходу из состояния покоя в зимнее время при кратковременных оттепелях и усыханию, вследствие потерь влаги при транспирации.

Целью работы было изучение влияния температурного фактора на активность фотосинтетического аппарата хвойных в осеннее-зимний период. Исследования проводили на территории государственного заповедника «Столбы». Традиционно регистрация сроков наступления сезонных явлений осуществляется с помощью фенологических наблюдений. Но в связи с тем, что подготовка к состоянию зимнего покоя включает и обратимые изменения на уровне хлоропластов, при изучении перехода деревьев в состояние покоя и выхода из него хорошо зарекомендовал себя метод регистрации кривых термоиндуцированных изменений нулевого уровня флуоресценции (ТИНУФ), и стало возможным использование данного метода для определения длительности и глубины покоя растений. Параметры флуоресценции хлорофилла определяли с помощью флуориметра JUNIOR-PAM (Walz, Германия). В качестве основного показателя был выбран Y(II) – квантовый выход, рассчитываемый как отношение F'/Fm. В качестве независимого индикатора покоя взято содержание в хвое абсцизовой кислоты (АБК). В стадии физиологического покоя накопление АБК у хвойных растений является необходимым фактором для успешного перенесения низких температур в зимний период. Температурные показатели получены по данным метеостанции заповедника «Столбы».

Выход некоторых видов хвойных из состояния зимнего покоя в ответ на ранние оттепели делает растения чувствительными к низким отрицательным температурам. В результате наблюдается иссушение хвои, ослабление деревьев и их гибель. Проведенные исследования фотосинтетического аппарата показали, что различные виды хвойных (пихта сибирская – *Abies sibirica Ledeb.*, ель сибирская – *Picea obovata Ledeb.*, сосна обыкновенная – *Pinus sylvestris L.,* сосна сибирская кедровая – *Pinus sibirica Du Tour.*) имеют разную глубину зимнего покоя. Наибольшую глубину покоя, как по флуоресцентным параметрам, так и по содержанию АБК, имеет сосна обыкновенная, наименьшую - пихта сибирская и ель сибирская, а сосна сибирская занимает промежуточное положение. Во время прохождения осенней фотопериодической реакции и подготовки к переходу в состояние зимнего покоя основным сигнальным фактором для растений является изменение длины светового дня. Однако сохранение фотосинтетической активности (ФА) у темнохвойных видов в осенний период достаточно сильно зависит также от температуры воздуха. Проведенные нами исследования свидетельствуют о том, что ель и пихта более чувствительны к изменениям температуры в осенний период по сравнению с представителями рода Pinus. Для понимания вклада минимальных и максимальных температур в регуляцию ФА хвои мы проследили зависимость флуоресцентных параметров от температурных показателей. Наиболее сильная корреляция в осенний период отмечена для максимальных дневных температур, особенно ярко это проявляется у двухлетней хвои. В зимний период определяющими для возобновления ФА становятся среднесуточные температуры. Вероятно, это связано с тем, что растения в это время переходят в состояние вынужденного покоя, выход из которого сдерживается только низкими температурами. В качестве сигнала к возобновлению ФА используется, по-видимому, накопленная сумма эффективных температур, и суточные колебания имеют меньшее значение, чем в осенний период. В целом, роль температурного фактора для возобновления ФА в зимнее-весенний период ожидаемо выше, чем в осенний, причем более сильное влияние температура оказывает на двухлетнюю хвою, тогда как в однолетней хвое обнаружено более высокое содержание АБК и более слабая зависимость от изменения температуры. Полученные данные свидетельствуют о значительном вкладе температурного фактора в регуляцию активности фотосинтетического аппарата хвойных не только в зимнее-весенний, но и в предзимний период, при этом обнаружены достаточно сильные видовые отличия. Таким образом, разработка методологии оценки резистентности растений к кратковременным зимне-весенним повышениям температуры является актуальной задачей, решение которой позволит, в частности, оценивать пригодность растений для лесовосстановления в районах, подверженных зимним оттепелям.

КЛЮЧЕВЫЕ МИКРОЭЛЕМЕНТЫ В УСТОЙЧИВОСТИ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ В ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ ПРОИЗРАСТЕНИЯ

Key trace elements in resistance of spring wheat under extreme growth conditions

Пахомова В.М., Даминова А.И.

ФГБОУ ВО «Казанский государственный аграрный университет», Казань, Республика Татарстан, Россия
pahomovav@mail.ru

Практически на всей территории РФ 2010 г. вегетации сельскохозяйственных растений являлся, несомненно, экстремальным в связи с сильной засухой и повышенными температурами. В условиях широкомасштабных пожаров на территории РФ засуха сопровождалась мглой, которая, несомненно, усиливала действие засухи путем иссушения растений. Под мглой понимается более или менее сильное помутнение воздуха взвешенными в нем частичками пыли, дыма и гари. Таким образом, 2010 г. характеризовался комплексным действием различных неблагоприятных факторов. Засуха как биометеорологическое явление характеризуется длительным, а иногда и кратковременным бездождным периодом, повышенной температурой воздуха, увеличением дефицита насыщения влажности воздуха, что вызывает усиление испарения и транспирации, в результате чего происходит обезвоживание и перегрев растений, вызывающие их повреждения, снижение продуктивности, а в ряде случаев не только повреждение, но и гибель растения. Засухи могут сопровождаться суховеями. Под суховеями понимается ветер при высокой температуре и большом недостатке насыщения воздуха влагой.

Экстремальные условия произрастания растений в 2010 г. привели приблизительно к двух - трехкратному снижению урожайности яровой пшеницы по сравнению со средними многолетними данными в наших экспериментах.

В настоящее время общеизвестным является существование единого звена, общих принципов и механизмов в формировании стрессового ответа растений. В качестве такого универсального компонента рассматривается окислительный стресс, развитие которого показано при действии на растения самых разнообразных стрессоров, в том числе засухи и гипертермии.

Окислительный стресс, как известно, характеризуется усилением продукции активных форм кислорода (АФК). Увеличение продукции АФК в стрессовых условиях приводит к активации окислительных процессов, в том числе перекисного окисления липидов (ПОЛ), протекающего в норме на определенном стационарном уровне. Интенсификация ПОЛ способна привести к изменению свойств липидного матрикса мембран и модификации метаболизма всей клетки, однако его воздействие существенно ограничивается за счет работы антиоксидантной (АО) системы, включающей ферменты и низкомолекулярные соединения.

Ферменты АО-защиты включают супероксиддисмутазу, каталазу, пероксидазу, аскорбат-глутатионовый цикл (включающий в себя аскорбатпероксидазу, дегидроаскорбатредуктазу, монодегидроаскорбат-редуктазу и глутатионредуктазу), глутатион-S-трансферазу и в некоторых случаях глутатионпероксидазу.

СОД придается решающее значение в системе АО-защиты клеток. У эукариот имеется три основных типа СОД, различающихся кофакторами, определяющими их каталитическую активность: медь, цинк- содержащая, марганец- содержащая и железо- содержащая формы.

В связи с вышеизложенным не вызывает сомнения ключевая роль четырех микроэлементов (меди, цинка, железа и марганца) в регуляции устойчивости растений в экстремальных условиях существования.

Экспериментальные данные показали, что обработка различной кратности вегетирующих растений микроудобрениями, содержащими цинк, железо и марганец, приводят к возрастанию активности СОД, а также каталазы и пероксидазы в случае действия железо-содержащего микроудобрения. Активизация ферментов АО-защиты клеток сопровождается снижением ПОЛ, увеличением устойчивости растений и, в итоге, повышением урожайности яровой пшеницы в этих условиях. Следует подчеркнуть, что содержание МДА в клетках растений яровой пшеницы в стрессовых условиях 2010 г. также возрастало в 2-3 раза по сравнению с таковым в нормальные годы вегетации. Кроме того, важно обратить внимание на то, что значения повышения урожайности и снижения содержания МДА в клетках под влиянием указанных микроэлементов коррелировали между собой, что дает основание полагать, что содержание МДА может являться критерием устойчивости растений к действию стресс-факторов (судя по влиянию на интегральный показатель резистентности – урожайность).

Таким образом, очевидна необходимость обработки вегетирующих растений микроудобрениями, содержащими медь, цинк, железо и марганец, в экстремальных условиях произрастания при подавлении поглотительной активности корней.

МикроРНК ЭКСТРЕМОФИЛА *THELLUNGIELLA SALSUGINEA* ПРИ ДЕЙСТВИИ СТРЕССА

The microRNA profile of extremophile *Thellungiella salsuginea* under stress condition

Пашковский П.П.,[1] Карташов А.В.,[1] Рязанский С.С.,[2] Кузнезов Вл.В.[1]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; pashkovskiy.pavel@gmail.com*

[2] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной генетики Российской академии наук, Москва, Россия*

Выживание растений в условиях стресса связано с множеством условий, одним из которых является правильное перераспределение энергии, которая в нормальных условиях тратится на рост и развитие растения. Растительный организм вынужден затрачивать на борьбу с последствиями стрессового состояния значительные ресурсы, одновременно обеспечивая протекание ключевых процессов метаболизма на необходимом уровне. Исходя из этого, растение сформировало сигнальную сеть, позволяющую точно реагировать на меняющиеся условия внешней среды. Решающую роль в реакции растения на сигналы об окружающей среде играет гормональная регуляция. В последнее время гормональная система регуляции дополняется другими более тонкими механизмами, к которой относится РНК-интерференция. Одним из элементов этой регуляции являются микроРНК – короткие некодирующие РНК, участвующие в реализации большинства онтогенетических процессов, как в нормальных условиях, так и при стрессе.

В наших исследованиях было осуществлено высокоэффективное ресеквенирование (NGS Illumina™) тотальной РНК, выделенной из растений экстремофила *Thellungiella salsuginea* (Pallas) O.E. Schulz в контрольных условиях и при действии 300мМ NaCl в течении 24 ч (модуляция сильного стресса).

Было установлено, что в растении *T. salsuginea* конститутивно экспрессирующим 42 семейства микроРНК насчитывающих 110 представителей при воздействии засоления дифференциально изменялась экспрессия определенных микроРНК. Наблюдалось значительное увеличение экспрессии около 20 микроРНК. При действии засоления число прочтений копий miR838 возрастало в 100 раз, а число прочтений miR398, miR156, miR159, miR395 в 10 раз. Мишенями miR838 являются гены биосинтеза гормонов, таких как ауксины и абсцизовая кислота, мишенями miR398 являются гены Cu/Zn-SOD, miR156 влияет на гены транскрипционных факторов SPB, miR159 связана с функционированием транскрипционных факторов MYB, miR395 влияет на гены синтеза целлюлозы.

Полученные результаты указывают на то, что микроРНК участвуют в первичном ответе на действие засоления. Полученные данные указывают вероятное ингибирование мРНК некоторых антиоксидантах и дыхательных ферментов, генов биосинтеза гормонов, целлюлозы и транскрипционных факторов, которые в свою очередь способны регулировать целый комплекс других генов. Наблюдаемая картина экспрессии микроРНК у растений при стрессе свидетельствует как о возможном замедлении биосинтеза гормонов, необходимом для перераспределения энергии между процессами метаболизма так и об активации механизмов изменяющих чувствительность клеток и тканей к уже образовавшимся гормонам.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОСЕННЕ-ВЕГЕТИРУЮЩИХ ТРАВЯНИСТЫХ РАСТЕНИЙ, ЗАМОРОЖЕННЫХ ЕСТЕСТВЕННЫМ ХОЛОДОМ – ЗЕЛЕНОГО КРИОКОРМА, В УСЛОВИЯХ ЯКУТИИ

The use of autumn naturally frozen herbaceous plants as green cryofodder in Yakutia

Петров К.А., Перк А.А.

ФГБУН Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск, Республика Саха (Якутия), Россия; kap_75@bk.ru

Особую актуальность для увеличения объема продуктов животноводства (крупный рогатый скот, табунное коневодство, оленеводство) в северных регионах России приобретает создание прочной кормовой базы. До настоящего времени основным кормом для крупного рогатого скота (КРС) в Якутии в зимний период остается сено естественных кормовых трав. При сушке травы на сено, а также из-за нарушения технологии его заготовки происходит значительное снижение содержания питательных и биологически активных веществ, нередко достигающие 30-90% от первоначальных их значений в свежей нескошенной траве. Все это приводит к тому, что у КРС часто отмечаются патологические нарушения, нежизнеспособность приплода, снижение устойчивости к инфекциям. Лошади и олени в зимний период восполняют дефицит в питательных веществах и витаминах за счет поедания остатков зеленых побегов и листьев замороженных естественным холодом кормовых трав, выкапываемых ими из-под снега.

Большая часть на Земле в течение года подвергается действию холода (низких положительных температур) и мороза (низких отрицательных температур): в субтропиках температура часто опускается ниже 0°С, а в умеренных зонах – до -20-40°С. Севернее этих районов лежит зона многолетней мерзлоты, где температура воздуха бывает еще ниже, широко распространены осенневегетирующие и зимнезеленые растения, поедаемые животными на пастбище в осенне-зимний период – зеленый криокорм.

В рамках ранее предложенной нами общей теории устойчивости к низкотемпературному стрессу и формирования повышенной питательной ценности кормовых трав в осенне-зимний период, мы исследовали изменение содержания каротиноидов, общих липидов, фосфолипидного и жирнокислотного состава у одно- и многолетних травянистых растений (*Avena sativa* L., *Elytrigia repens* L. Nevski, *Equisetum variegatum* Scleich. ex Web., E. *scirpoides* Mich.) во время вегетации и при переходе осенью морозоустойчивое физиологическое состояние (Петров и др., 2010-2014). Формирование криорезистентности у растений сопровождалось значительным возрастанием содержания как общих липидов, так и их жирных кислот (ЖК), включая незаменимые ЖК (линолевой, α-линоленовой и других кислот эйкозанового ряда), а также целого спектра жирорастворимых пигментов. Таким образом, основным источником биоэнергетики, обеспечивающей жизнедеятельность зимующих в условиях экстремально холодного климата Центральной и Северо-Восточной Якутии животных является питательные (углеводы, липиды, белки) и биологически активные (полиеновые ЖК, витамин С и Е, β-каротин, лютеиновый комплекс и др.) вещества замороженных естественным холодом кормовых трав.

Консервирование естественным холодом зеленой массы позволяет максимально полно сохранить накопленные растениями в период холодового закаливания питательные и биологически активные вещества, снизить их потери до 5%, против 40-20% при других способах заготовки (сено, силос, сенаж). Использование криокорма в зимний период также способствует замене дорогостоящих концентрированных кормов. Обогащение рациона сельскохозяйственных животных зеленым криокормом приводит к их оздоровлению, повышению продуктивности и качества продукции, а также более оптимальному использованию естественных лугов и пастбищ. С учетом возможности механизации всего процесса заготовки и хранения криокорма данная технология может быть применима повсюду, где наблюдается краткий период межсезонья (быстрый переход лето-зима). Такое стремительное падение температур, обуславливающее консервирующий эффект, свойственно северу Сибири и Дальнего Востока, северо-востоку Европейской части России – регионам первоочередного и предпочтительного внедрения новой технологии.

Применение естественного холода – неограниченного и дешевого ресурса Сибири – для закаливания осенне-вегетирующих растений (растения овса посевного, костреца безостого и пырея ползучего, выросшие после позднего сева и скашивания соответственно), что приводит к значительному накоплению в их клетках больших количеств самых энерго- и материалоемких питательных (углеводы, белки и липиды) и биологически активных (лютеиновый комплекс, β-каротин, витамины С, Е, полиеновые жирные кислоты: линолевая, линоленовая) веществ, последующее их концентрирование (выделение) и создание витаминных препаратов может явиться основой следующих уникальных направлений по сельскохозяйственной криофитобиотехнологии.

ЗЕЛЕНЫЙ КРИОКОРМ И КРИОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ОРГАНИЗМОВ ЯКУТИИ

Green cryofodder and cryoresistance of organisms in Yakutia

Петров К.А., Перк А.А.

ФГБУН Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск, Республика Саха (Якутия), Россия; kap_75@bk.ru

Известно, что широко распространенные на территории Якутии разнообразные пастбищные угодья с замороженными естественным холодом травянистые растения вполне удовлетворяют и обеспечивают кормовую базу многих мелких и крупных млекопитающих, самостоятельно добывающих себе корм, в течение всего года. В летне-осенний период трава (отава), отросшая на сенокосах и пастбищах после скашивания и стравливания злаковых травянистых растений, является ценным нажировочным кормом для многих травоядных животных. При благоприятных условиях осени отава, подвергаясь холодовому закаливанию, сохраняется до начала зимы в зеленом виде и в таком состоянии уходит под снег. Это связано с тем, что холодовая адаптация осенневегетирующих растений к низкотемпературному стрессу приводит к накоплению в них самых энерго-, материалоемких и антиоксидантных веществ.

Действие климатических факторов осенью, в первую очередь, сокращение длины дня и снижение среднесуточных температур, оказывает влияние на две последовательные фазы закаливания осенневегетирующих травянистых растений, когда вторая фаза – закаливание отрицательными температурами – возможно только после воздействия низкими положительными (первая фаза), приводя к синтезу и депонированию у них в значительных количествах целого ряда энергоемких веществ, включая липиды и их жирные кислоты. Эти же условия, с другой стороны, запускают гормональные изменения в организме питающихся зеленым криокормом местных травоядных животных, перестраивают их метаболизм, подготавливая к перезимовке с экстремально низкими температурами. В период зимовки у млекопитающих липаза расщепляет триглицериды, содержащиеся в зеленом криокорме и накопленных в организме животных с осени жировых запасов, до жирных кислот и глицерина. Образовавшиеся таким путем свободные жирные кислоты в митохондриях становятся не только основными субстратами окисления, но и важнейшим регулятором – разобщителем дыхания и фосфорилирования, упрощающим превращение энергии дыхательных субстратов в тепло. Энергия расходуется в организме непрерывно, тогда как поступление пищи – процесс периодический. Поэтому, часть съеденной пищи не утилизируется немедленно, а откладывается в запас.

В период зимовки у млекопитающих обмен веществ сопровождается расходованием жировых запасов, накопленных в организме с осени. Действительно, многие виды млекопитающих, обитающие в регионах с холодным климатом, отличаются развитой способностью к накоплению наружного и внутреннего жира. Например, наибольшая упитанность у северных оленей наблюдается осенью, содержание жира в этот период в спинной части туши равняется 19-20%. Якутская лошадь, которая в течение всей жизни находится в полудиком состоянии, отличается высокой способностью к отложению в организме больших запасов жира, к осени 10,3-16,8% туши составляет сало.

Таким образом, основным источником биоэнергетики, обеспечивающей жизнедеятельность зимующих в условиях экстремально холодного климата Центральной и Северо-Восточной Якутии не впадающих в спячку и зимнеспящих животных, являются питательные (углеводы, липиды, белки) и биологически активные (полиеновые ЖК, витамины С и Е, β-каротин, лютеиновый комплекс и др.) вещества зеленого криокорма, который является первым звеном пищевой цепочки: зеленый криокорм – животное – человек и который играет ключевую роль в формировании и регуляции криорезистентности организмов Севера.

ТЕОРИЯ ХОЛОДОВОГО ЗАКАЛИВАНИЯ РАСТЕНИЙ И ЗЕЛЕНЫЙ КРИОКОРМ В ЯКУТИИ

The theory of plant cold hardening and green cryofodder in Yakutia

Петров К.А., Перк А.А.

ФГБУН Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск, Республика Саха (Якутия), Россия; kap_75@bk.ru

Теория поэтапного повышения криорезистентности растительного организма И.И. Туманова (1940, 1979) лежит в основе существования огромной группы многолетних травянистых растений, произрастающих, главным образом, в умеренных и северных климатических зонах Земли. В средних широтах температуры воздуха часто опускаются до -20 - -40°С. Севернее этих широт лежит зона многолетней мерзлоты, где температура воздуха еще ниже. Длительное изучение особенностей роста, развития и питательной ценности травянистых растений криолитозоны, проведенной многими поколениями исследователей, позволило нам сделать следующие выводы:

Во-первых, злаково-осоковые избыточно-увлажненные и заболоченные аласные луга, арктофилево-пушицевые и хвощовые фитоценозы Центрально-Якутского, Яно-Индигирского флористического районов Якутии, подвергаются ежегодно длительному заливанию паводковыми водами. В этих условиях вегетация растений начинается поздно, они часто не успевают пройти весь цикл роста и развития, и, уходя под снег, сохраняют значительную свою часть (до 20-50%) в зеленом замороженном состоянии, при этом происходит криоконсервация зеленой массы в виде так называемого нажировочного корма. По данному показателю особо выделяются три вида хвощовых, например, у хвощей речного (*Equisetum fluviatile*) на долю зеленой части приходится около 20%, пестрого и камышкового (*E. variegatum* Schleich. ex Mohr и *E. scirpoides* L.) – 100%. Зимнезеленые части отмеченных выше растений всегда сохраняют на зиму повышенное содержание питательных веществ. Также к нажировочным растениям относятся некоторые злаки, гидрофитные осоки и большинство пушиц.

Во-вторых, злаковые и осоковые растения, произрастающие на аласных лугах Центральной и Северо-Восточной Якутии обладают высокой возобновляемостью при нанесении им тех или иных механических повреждений (стравливание травоядными животными, хозяйственное скашивание, действие града, ветра и т.д.). Поэтому новые побеги, вырастающие из прикорневых почек поврежденных растений, также не успевают пройти цикл развития и при наступлении отрицательных температур воздуха замороженные естественным холодом растения уходят под снег частично с зелеными листьями.

Осенью в Якутии складываются самые благоприятные погодные условия для повышения термоустойчивости осенневегетирующих травянистых растений. Преобладающими метеорологическими элементами являются наличие большого числа ясных солнечных дней, необходимых для фотосинтеза, и прохладных ночей, задерживающих расходование углеводов на дыхание. По средним многолетним данным, в Центральной Якутии период с температурами, подходящими для прохождения первой фазы закаливания (дневные температуры до 10-15°С, ночные – до -1 - -2°С), приходится на II-V пентады сентября. Именно в этот период у растений постепенно формируется свойство переносить первые отрицательные температуры за счет возможного термогенеза.

Приведенные выше выводы послужили основой проведения нами комплексных эколого-физиологических и биохимических исследований холодоустойчивости травянистых растений криолитозоны, в которых использовали районированные в Якутии сорта одно- и многолетних травянистых растений местной селекции: овес посевной (*Avena sativa* L.) сорта Нюрбинский и кострец безостый (*Bromopsis inermis* Leys) сорта Аммачаан. Выращиваемые в условиях Центральной Якутии злаковые растения подвергались к естественному холодовому закаливанию во второй половине сентября. Для этого кострец безостый высевался в оптимальные для климатического региона сроки (конец мая – начало июня), затем в фазе начала колошения (вторая декада июля) растения скашивали с целью стимулирования закладки новых вегетативных побегов. Овес посевной, наоборот, сеяли в более поздние сроки (в середине июля), значительно сдвинутые относительно общепринятых (конец мая – начало июня). Отрастающие новые побеги костреца безостого и овса посевного проходили период закаливающих среднесуточных низких положительных температур воздуха от +5 до 0°С. В начале октября, замороженные естественным холодом растения уходили под снег в зеленом состоянии в фазе трубкования. В результате были получены данные, отражающие действие первой и второй фаз холодовой адаптации на травянистые растения в условиях криолитозоны Якутии.

ФОРМИРОВАНИЕ КОНРАКТИЛЬНОСТИ РАСТИТЕЛЬНЫХ ВОЛОКОН: РОЛЬ ГИПЕРЭЛАСТИЧНОГО РАМНОГАЛАКТУРОАНАНА I

Formation of plant fibers contractility: role of hyperelastic rhamnogalacturonan I

Петрова А.А., Микшина П.В., Горшкова Т.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук, Казань, Республика Татарстан, Россия
anna.an.petrova@gmail.com

Растительные волокна – клетки механической ткани, склеренхимы, обладающие исключительной длиной и мощно развитой третичной клеточной стенкой. Особый состав и структура клеточной стенки желатинозного типа, формирующейся исключительно у растительных волокон, обуславливают наличие контрактильных свойств, основанных на создании натяжения в клеточной стенке. Существует гипотеза, согласно которой натяжение создается за счет латерально взаимодействующих микрофибрилл целлюлозы при попадании между ними полисахаридов матрикса. Таким полисахаридом служит, по всей видимости, сложный рамногалактуронан I с боковыми галактановыми цепями, с накоплением которого сопряжено формирование третичной клеточной стенки желатинозных волокон различного происхождения. Локализация и функционирование рамногалактуронана I в условиях давления, возникающего при взаимодействии микрофибрилл целлюлозы, предполагает наличие у этого полисахарида определенных упруго-пластических свойств. В докладе будут описаны необычные свойства рамногалактуронанов I волокон льна, позволяющие им участвовать в создании натяжения в клеточной стенке.

На примере рамногалактуронана I желатинозных волокон льна, впервые показана способность пектиновых полисахаридов этого типа образовывать при физиологических концентрациях гидрогели. Методом одноосного сжатия установлено, что эти гидрогели являются гиперэластичными материалами. С помощью ИК-спектроскопии выявлено наличие в образцах гелеобразующих рамногалактуронанов I волокон льна молекул воды, прочно удерживаемых этими полисахаридами. Обнаружено, что повышение силы связывания воды сопряжено с повышением модуля упругости и понижением коэффициента Пуассона формируемого рамногалактуронанами I геля. С использованием метода конечных элементов построена модель захвата гиперэластичного рамногалактуронана I латерально взаимодействующими микрофибриллами целлюлозы, которая подтвердила пригодность установленных свойств геля из рамногалактуронана I для функционирования в условиях давления, существующего в желатинозной клеточной стенке.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ № 14-04-31462, 15-04-02560.

КЛОНИРОВАНИЕ И МОЛЕКУЛЯРНЫЙ АНАЛИЗ БЕЛКА СЕМЕЙСТВА CLC (CHLORIDE CHANNELS) ИЗ МОРСКОЙ МИКРОВОДОРОСЛИ *DUNALIELLA MARITIMA*

Cloning and molecular analysis of CLC (Chloride Channels) protein from marine alga *Dunaliella maritima*

Петроковская П.С.[1], Маталин Д.А.[2], Шувалов А.В.[2], Юрченко А.А.[3], Попова Л.Г.[2]

[1] *Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*
polina.petrokovskay@gmail.com
[2] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия; lora_gp@mail.ru*
[3] *Санкт-Петербургский государственный университет, Центр геномной биоинформатики им. Ф.Г. Добржанского, Санкт-Петербург, Россия; andreyurch@gmail.com*

Для организмов, обитающих в средах с повышенным содержанием NaCl, наряду с поддержанием в клетках Na^+ гомеостаза большое значение имеет также поддержание Cl^- гомеостаза. Важную роль в регуляции внутриклеточных концентраций Cl^- играют белки семейства CLC (**Ch**l**L**oride **C**hannel). Эти мембранные белки широко распространены в живой природе и найдены у представителей всех царств. Семейство CLC включает в себя анионные каналы и анион/протонные антипортеры, в частности, Cl^-/H^+-антипортеры и NO_3^-/H^+-антипортеры, работа которых обеспечивается протонным градиентом на клеточных мембранах.

Морская микроводоросль *Dunaliella maritima* относится к большому семейству одноклеточных зеленых микроводорослей Dunaliellaceae, представители которого повсеместно распространены в водах морей и соленых водоемов. Механизмы Na^+ гомеостатирования у *D.maritima* активно изучаются, тогда как механизмам Cl^- гомеостатирования до настоящего времени внимания уделялось мало. Наше исследование направлено на обнаружение и изучение белков семейства CLC у *D. maritima*.

На первой стадии работы были проанализированы аннотированные в базе данных SRA (DNA and RNA Sequence Read Archive) транскриптомы родственной микроводоросли *Dunaliella tertiolecta* (SRA ID: SRX047443, SRX047444, SRX549041, SRX554105, SRX554106). Риды, представленные в базе, были отфильтрованы по качеству и длине в программе FastQC, а затем собраны в контиги, размеры которых составляли 205-14340 нуклеотидов, в программе Trinity. Поиск последовательностей, кодирующих CLC, в файле с контигами осуществляли с помощью программы tblastx. В зависимости от транскриптома было найдено от 8-и до 15-ти CLC контигов различного размера (220-3320 нуклеотидов). Дальнейший анализ выявил 4 индивидуальных контига, которые представляли полноразмерные транскрипты CLC, содержащие открытую рамку считывания; более короткие контиги являлись фрагментами этих четырех полноразмерных транскриптов. Среди полноразмерных транскриптов была выбрана последовательность, присутствующая во всех проанализированных транскриптомах, и на основе этой последовательности были созданы специфические нуклеотидные праймеры для поиска аналогичной последовательности у *D. maritima.*

Культуру водоросли *D. maritima* выращивали в среде, содержащей 0,5M NaCl. Из клеток, взятых на поздней логарифмической фазе роста, методом горячей фенольной экстракции была выделена тотальная РНК, на матрице которой затем была получена кДНК. На основе синтезированной кДНК методом ОТ-ПЦР с использованием подобранных праймеров был амплифицирован фрагмент ДНК, размер которого соответствовал ожидаемому. Фрагмент был лигирован с плазмидой pAL-TA («Евроген») и клонирован в компетентные клетки *E.coli* XL1-Blue («Евроген»). Были получены клоны, несущие плазмиду со вставкой. Дальнейшее секвенирование показало, что вставка соответствует фрагменту кДНК, кодирующей CLC белок, сходный с растительными CLC-d. Известно, что белки CLC-d являются Cl^-/H^+-антипортерами и функционируют в мембранах аппарата Гольджи. Работа по клонированию полноразмерной последовательности кДНК с целью исследования физиологической функции белка CLC-d у *D.maritima* продолжается.

Исследование поддержано грантом РФФИ № 13-04-01098 и грантом Правительства РФ № 1.G34.31.0068.

АКТИВНОСТЬ СУПЕРОКСИД-ПРОИЗВОДЯЩИХ БЕЛКОВЫХ КОМПЛЕКСОВ ПЛАЗМАЛЕММЫ ЭТИОЛИРОВАННЫХ ПРОРОСТКОВ КУКУРУЗЫ, ПОДВЕРГНУТЫХ ДЕЙСТВИЮ НИЗКОЙ ПОЛОЖИТЕЛЬНОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ

Activity of plasma membrane superoxide-produced protein complexes of etiolated maize seedlings exposed to non-freezing low temperature

Пиотровский М.С., Лаптева Т.А., Жесткова И.М., Трофимова М.С.

Федеральное государственно бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; agro-ministr@yandex.ru

Генерация супероксид-анион радикала плазмалеммой реализуется с участием, по крайней мере, трех ферментных систем – НАДФН-оксидазы, мембрансвязанной пероксидазы семейства РОХIII и НАДН-зависимой нафтохинон-оксидоредуктазы. Существование альтернативных путей образования супероксида усложняет задачу выявления физиологической функции каждой из них и источника АФК в ответной реакции растений на изменение внешних условий, абиотических и биотических стрессов, поранениях, поражениях насекомыми и т.д. Накопленный к настоящему времени массив информации свидетельствует о том, что генерируемый НАДФН-оксидазой супероксид-анион радикал и продукт его дисмутации пероксид водорода являются носителями мессенджерной функции, а НАДФН-оксидаза может быть одним из исходных звеньев системы клеточного сигналинга. Перспективным подходом к экспериментальному обоснованию регуляторной функции НАДФН-оксидазы является изучение структурного состояния и супероксид-генерирующей активности при изменении внешних условий при неблагоприятном для роста и развития растений. В нашей работе в качестве такого фактора использовалась низкая положительная температура.

Совершенствование измерительной техники заставило пересмотреть ряд положений по структуре мембран. В частности, получены свидетельства тому, что белки в плазмалемме объединены подобно «метаболонам» или комплексам сопрягающих мембран митохондрий или хлоропластов. По-видимому, при образовании мембранных белковых комплексов клетка получает преимущество, суть которого пока не ясна. Имеется несколько публикаций о включении НАДФН-оксидазы в такой комплекс. Однако информация об его свойствах и структуре пока ограничена, и это делает перспективу установления физиологической функции фермента достаточно неопределенной. Поэтому в нашей работе была предпринята попытка дифференцировать белковые комплексы плазмалеммы, способные продуцировать супероксид-анион радикал в результате окисления НАДФН/НАДН и обладающие пероксидазной активностью. Для этого препараты плазмалеммы, изолированной из 5-ти дневных этиолированных проростков кукурузы, контрольного (26°С) и опытного (6°С в течение 24 ч) вариантов разделяли на мультибелковые комплексы с помощью нативного электрофореза высокого разрешения и определяли их супероксид-продуцирующую и пероксидазную активности. Для идентификации НАДФН-оксидазы использовали вестерн-блот анализ с антителами против gp91phox. Для выявления качественных различий в составе комплексов использовали дифференциальный нативный электрофорез, произведя мечение контрольной и опытной изолированной плазмалеммы цианиновыми флуоресцентными красителями Cy2 и Cy3 соответственно. Согласно полученным результатам максимальной супероксид-продуцирующей активностью в присутствии НАДФН и НАДН, которая ингибировалась дифенилен иодониумом, проявлял высокомолекулярный (около 700 кД) комплекс, в котором детектировались белки, реагирующие с антителами против gp91phox. Активность этого комплекса в опытном варианте была снижена по сравнению с контрольным и обнаруживала большее сродство к НАДФН, чем к НАДН. Кроме того снижение температуры выращивания приводило к изменению белкового спектра комплекса, но не влияло на его размеры. Пероксидазная активность выявлялась в области 440 кД, причем этот комплекс не обладал супероксид-продуцирующей активностью. Несовпадение молекулярных масс комплексов с пероксидазной и НАДФН/НАДН-оксидазной активностью свидетельствует в пользу того, что молекулы этих ферментов не имеют непосредственного контакта в плазмалемме. Это может означать, что центры генерации супероксида в апопласте находятся на определенном расстоянии друг от друга.

ЭКСПРЕССИЯ АНТИГРИБНЫХ ПЕПТИДОВ ЗВЕЗДЧАТКИ ПОВЫШАЕТ УСТОЙЧИВОСТЬ КАРТОФЕЛЯ К АЛЬТЕРНАРИОЗУ

Expression of *Stellaria media* AMPs enhances potato resistance to early blight

Платонова Е.С.[1], Беляев Д.В.[1], Рогожин Е.А.[2], Деревягина М.К.[3], Мелешин А.А.[3], Васильева С.В.[3], Терешонок Д. В.[1], Юрьева Н.О.[1]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; bdv@ippras.ru*

[2] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия*

[3] *Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт картофельного хозяйства им. А.Г. Лорха, п. Коренево, Московская обл., Россия*

Устойчивость многих распространенных сорных растений к фитопатогенам, в том числе к грибам-микромицетам, обусловлена экспрессией генов низкомолекулярных белков (пептидов) с антимикробной активностью. Особый интерес представляют гевеин-подобные пептиды, обнаруженные в распространенном в нашей зоне сорном растении - звездчатка средняя (*Stellaria media*), которая употребляется в пищу в Великобритании.

Геном proSmAMP1 из сорняка звездчатка средняя, кодирующим два антигрибных гевеин-подобных пептида, SmAMP1.1a и SmAMP1.2a, впервые стабильно трансформированы контрастные по устойчивости к фитопатогенам сорта картофеля российской селекции Скороплодный, Удача, Красавчик, Жуковский ранний и Юбилей Жукова. Результаты проведенного Northern-анализа выявили различный уровень экспрессии целевого гена в трансгенных растениях разных сортов картофеля. В популяции трансгенов были выбраны линии с наиболее высоким уровнем экспрессии целевого гена. Эти линии были использованы для дальнейших анализов. Данные Southern–анализа показали, что увеличение числа копий (более 3-4) не приводило к повышению уровня экспрессии ни в одном из трансгенов. Коэффициент корреляции между числом копий и уровнем экспрессии гена в листьях был r = -0,55513, в корнях r = -0,14857. Наиболее высокий уровень экспрессии целевого гена в листьях трансгенных растений наблюдали при наличии одной, реже двух его копий.

Трансгенные линии с подтвержденной Northern-гибридизацией экспрессией целевого гена были высажены в теплице и оценены методом искусственного заражения отделенных листьев. Для всех сортов было продемонстрировано относительно небольшое повышение устойчивости трансгенов к возбудителю *Phytophthora infestans* и более выраженное (до 100% у отдельных линий) повышение устойчивости к *Alternaria solani.* Выявлена корреляция экспрессии целевого гена в листьях и корнях и устойчивости к возбудителю альтернариоза.

В листьях трех выделившихся по устойчивости к патогенам трансгенных линий сортов Скороплодный, Удача и Жуковский ранний методами жидкостной хроматографии и MALDI-времяпролетной масс-спектрометрии было выявлено присутствие белков-предшественников гевеин-подобных пептидов звездчатки. Показано, что в картофеле происходит частичный процессинг продукта трансляции гена proSmAMP1. Именно, как и у звездчатки, в картофеле после синтеза на рибосоме у незрелого пептида удаляются N- и C- концы, но дальнейший процессинг с высвобождением двух пептидов не идет, и в листьях картофеля накапливается пропептид SmAMP1.1a/1.2a.

В популяции трансгенов с. Жуковский ранний три линии с единичной копией целевого гена и повышенным уровнем экспрессии целевого гена в листьях демонстрировали повышенную устойчивость к обоим патогенам в течение 2-х лет.

СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ АДАПТАЦИИ ЛИСТА *BETULA NANA* В РАВНИННЫХ И ГОРНЫХ УСЛОВИЯХ

Structural peculiarities of *Betula nana* leaf adaptation on the plains and in the mountains

Плюснина С.Н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, Сыктывкар, Россия; pljusnina@ib.komisc.ru

Betula nana L. является широко распространенным бореально-арктическим видом растений, для которого характерны высокая экологическая пластичность и разнообразие морфотипов. На европейском Северо-Востоке России наибольшее распространение этот вид имеет в подзоне южных тундр и поясе горных тундр на Урале, где образует доминантные и содоминантные сообщества. Цель данной работы – изучение структурных особенностей адаптации фотосинтетического аппарата *B. nana* в равнинных и горных условиях Республики Коми и прилегающих территорий.

Побеги *B. nana* были отобраны в июле-августе 2009-2014 гг. в болотных и лесных сообществах средней, северной и крайнесеверной подзон тайги и кустарниковой тундры на территории Республики Коми, в тундровых сообществах НАО, а также в наиболее типичных растительных сообществах западного макросклона Северного и Приполярного Урала. Для изучения структуры фиксировали полностью сформированные листья с брахибластов.

На равнинной территории (60.2° с.ш. – 68.5° с.ш.) площадь листа *B. nana* связана с географическим положением местопроизрастания растений. Изменения носят противоположный характер к северу и югу от популяций в центре широтного ряда. В изученных популяциях площадь листовой пластинки варьировала от 0,7 до 1,7 см² с максимальными значениями в северной части таежной зоны. До 62°с.ш. и после 67°с.ш. значения не превышали 1 см². Для плотности расположения устьиц и пельтантных железок не выявлена зависимость от географической широты расположения популяции *B. nana*. Вероятно, как и у других представителей рода *Betula*, эти параметры определяются микрорельефом и микроклиматическими условиями местопроизрастания растений. Не выявлена четкая зависимость толщины листа от географического положения, однако максимальную толщину имели листья с крайних южных и северных популяций. Разнонаправленный характер изменений был установлен также для числа рядов клеток столбчатой (палисадной) паренхимы в мезофилле *B. nana*. В центре широтного ряда в листовой пластинке формировались один-два ряда таких клеток, к югу и северу от центральной части – два-три. В итоге у растений с большой площадью листа этот показатель был низкий (к = -0,6). Была отмечена тенденция (к = -0,5) к повышению участия губчатого мезофилла в сложении листа с продвижением на север. Таким образом, в условиях болот подзоны средней тайги, в лесотундре и тундре листья *B. nana* имели схожие структурные параметры, характеризовались небольшими размерами (до 1 $см^2$), значительной толщиной листа, хорошо обозначенными двумя-тремя рядами клеток столбчатого мезофилла. В условиях подзоны северной и крайнесеверной тайги на брахибластах *B. nana* формировались относительно крупные (более 1 см²) и тонкие листья, в ассимиляционной паренхиме которых столбчатый мезофилл был образован одним-двумя рядами клеток.

Установлено, что в условиях высокогорья площадь листа в среднем в 1,5 раза больше, а структурные признаки листа в целом варьируют сильнее, чем на равнине. В условиях Северного Урала (608 и 770 м над у.м.) при переходе от горно-лесного пояса к открытым пространствам гольцового пояса было отмечено снижение площади на 20% и толщины листовой пластинки на 25%, толщины клеток верхней эпидермы на 18% и высоты клеток столбчатого мезофилла на 20%, а также числа рядов клеток столбчатого мезофилла с двух-трех до одного-двух соответственно. В условиях Приполярного Урала (264, 496 и 570 м над у.м.) в изученных популяциях при переходе из горно-лесного в горно-тундровый пояс площадь листа увеличивалась более чем в 2,5 раза. Уменьшение толщины листовой пластинки было не достоверно. Повышение альтитуды в пределах горно-лесного пояса приводило к снижению плотности расположения I-го ряда клеток столбчатого мезофилла и числа их рядов с двух до одного. При выходе на более открытое местообитание горно-тундрового пояса число рядов столбчатого мезофилла восстанавливалось до двух-трех, в сложении листа увеличивалась доля палисадной ткани. В целом, и на Северном, и на Приполярном Урале с повышением альтитуды было отмечено достоверное снижение плотности пельтантных желез на листе, толщины клеточной оболочки в столбчатом мезофилле, повышение числа митохондрий в фотосинтетической клетке и суммарного числа гранальных тилакоидов в хлоропласте. На плотность расположения устьиц, вероятно, в значительной степени влияют фитоценотические условия, поэтому зависимость этого параметра от географической широты и высоты над уровнем моря не установлена.

Автор выражает искреннюю признательность сотрудникам Института биологии Коми НЦ УрО РАН д.б.н. С.В Загировой, к.б.н. Н.В. Герлинг, к.б.н. Н.Н. Гончаровой, к.б.н. И.Г. Захожему, к.б.н. В.А. Каневу, к.б.н. Е.Е. Кулюгиной, к.б.н. А.Н. Панюкову, к.б.н. Е.Н. Патовой, к.б.н. Т.А. Пристовой за помощь в сборе материала, а также вед. инженерам А.И. Патову и С.П. Швецову за техническую поддержку при работе с электронными микроскопами и инженеру С.И. Наймушиной за помощь при работе с образцами.

АКТИНОВЫЙ ЦИТОСКЕЛЕТ – МИШЕНЬ ДЛЯ ДЕЙСТВИЯ ГИДРОКСИЛЬНЫХ РАДИКАЛОВ И NaCl ПРИ СОЛЕВОМ СТРЕССЕ В КОРНЯХ АРАБИДОПСИСА

The actin cytoskeleton is a target for hydroxyl radicals and NaCl under salt stress in roots of *Arabidopsis thaliana*

Пожванов Г.А.[1], Медведев С.С.[1], Виссенберг К.[2], Демидчик В.В.[3]

[1] *Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; gregory@pozhvanov.com*
[2] *Университет Антверпена, Кафедра биологии, роста и развития растений, Антверпен, Бельгия kris.vissenberg@uantwerp.be*
[3] *Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь; dzemidchyk@bsu.by*

Действие NaCl на клетки корня растения является первичным повреждающим эффектом при засолении. Ранние эффекты воздействия NaCl (20–400 мМ) на клетки корня *Arabidopsis thaliana* включают повышение уровня свободного Ca^{2+} в цитоплазме, генерацию гидроксильных радикалов и выход K^+, которые вместе запускают программы адаптации, изменения метаболизма или программируемой гибели клеток.

С использованием корней трансгенных растений *A. thaliana GFP-fABD2*, позволяющих визуализировать актиновый цитоскелет *in vivo*, методом конфокальной микроскопии мы показали, что цитоскелет является еще одной важной мишенью действия солевого стресса. Действие сублетальной концентрации NaCl (100 мМ) запускало полимеризацию актина в зоне растяжения в течение 10 мин. после начала воздействия и вызывало замедление или остановку роста корня. Угловое распределение микрофиламентов изменялось от первоначального (аксиальная ориентация) к широкому спектру направлений с пиками при 15°, 45° и 90° относительно оси корня. Этот эффект удалось предотвратить добавлением полиаминов (спермин, спермидин), блокаторов Ca^{2+}-проницаемых каналов или гасителей активных форм кислорода. Следовательно, реорганизация цитоскелета могла быть вызвана образованием гидроксильных радикалов и входом Ca^{2+} в клетку. Обработка корней смесью, генерирующей гидроксильные радикалы (1 мМ Cu^{2+}, 1 мМ L-аскорбат и 1 мМ H_2O_2), вызывала сходный характер реорганизации актинового цитоскелета, которая, однако, развивалась в 10 раз быстрее (по сравнению с действием NaCl). Обработка корней арабидопсиса гасителями гидроксильных радикалов, полиаминами, EGTA или модуляторами активности неселективных катионных каналов задерживала развитие реорганизации цитоскелета, вызванное гидроксильными радикалами. Мелиорирующие действие полиаминов и гасителей гидроксильных радикалов также предотвращало остановку роста корня, вызванную NaCl или окислительным стрессом. Предложена гипотетическая модель, связывающая наблюдаемые перестройки актинового цитоскелета с другими ранними физиологическими процессами, индуцированными солевым стрессом в клетках растения.

Работа выполнена за счет средств НИР СПбГУ 1.38.233.2014, 1.57.1157.2014, 1.42.1282.2014, 1.57.163.2015 и РФФИ 14-04-01624, 15-04-04075 с использованием оборудования Ресурсного центра «Развитие молекулярных и клеточных технологий» СПбГУ.

АБСЦИЗОВАЯ КИСЛОТА И ЕЕ РОЛЬ ВО ВЗАИМООТНОШЕНИЯХ ЯЧМЕНЯ И ФИТОПАТОГЕННОГО ГРИБА *DRECHSLERA TERES SACC*

Abscisic acid and its role in the relationship between barley and the phytopathogenic fungus Drechslera teres Sacc.

Полякова Н.В., Недведь Е.Л.

Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси, Минск, Беларусь
nvpoliakova@mail.ru

При формировании фитопатосистемы ведущую роль во взаимодействии играют эндогенные регуляторы роста растения-хозяина и гриба, особенно в местах непосредственного контакта. В случае факультативного паразитизма таковыми будут наружные покровы, апопласт и межклетники. Взаимодействие организмов обоюдно, поэтому важно не только выделение грибом регуляторов роста, но и ответная реакция растения-хозяина, а также их накопление и роль в очагах локализации паразита. Среди регуляторов роста, играющих важную роль во взаимодействии растения-хозяина (ячмень) и фитопатогена (*Drechslera teres*), выделяется АБК. Растения ячменя в виде универсальной ответной реакции на различные стрессовые воздействия, в том числе и поражение факультативным патогеном *D. teres*, накапливают АБК. Повышение ее количества ведет к торможению ростовых процессов растения, вызванных либо ингибированием транспорта ИУК и цитокининов, либо к блокировке ростовой активности гриба, т.е. она оказывает влияние на активность других гормонов гриба, меняя тем самым характер протекания патогенеза. АБК локализована преимущественно в хлоропластах и, в меньшей степени, в цитозоле и в вакуолях. Поскольку в процессе поражения грибом растительных клеток хлоропласты изменяют пространственную ориентацию и желтеют, хлорофилл разрушается, накапливаются каротиноиды и увеличивается содержание ингибиторов ростовых процессов (АБК). Изменяется и внешний вид растения, что выражается в пожелтении и частичном усыхании листовой пластинки.

В культуре гриба АБК наиболее интенсивно выделяется в период его вступления в репродуктивную стадию, что сопровождается в тканях ячменя резким усилением активности метаболических процессов, падением интенсивности фотосинтеза, образованием биополимеров и, как следствие, некротизацией ткани ячменя. АБК – гормональное вещество ингибиторного типа, накапливаемое в значительных количествах в культуре гриба, в растениях ячменя в зависимости от локализации, стадии инфицирования и сортовой устойчивости, по-разному проявляет свое влияние. Отмечено, что в межклеточной жидкости у здоровых и больных растений содержание АБК было различным. Так, на 1-ой и 2-ой стадиях у больного ячменя устойчивого с. Прима содержание этого гормона возрастало в 2–3 раза по сравнению со здоровым образцом. У восприимчивого с. Гостинец закономерность была обратной и приводила к падению этого показателя. В тканях же здоровых и пораженных растений содержание АБК также варьировало, но на невысоком уровне. У ячменя с. Прима в больном растении содержание АБК было выше, чем у здорового. У ячменя с. Гостинец содержание АБК повышалось в меньшей мере, причем на обеих стадиях инфицирования.

Процесс узнавания патогена, возникающий в месте внедрения его в ткани хозяина, инициирует активность системы сигнализации, в ходе функционирования которой включается комплекс защитных реакций. В составе последних изменения метаболизма инфицированного растения и, в частности, гормональной и окислительно-восстановительной составляющих его. Предполагается, что взаимосвязь между соотношением окислительные/антиокислительные процессы и балансом ростостимулирующая и ростоингибирующая гормональная активность играют значительную роль в формировании фитопатосистемы ячмень – *D. teres*. Инфицирование растений грибными патогенами приводит к сдвигу равновесия между оксидантами и антиоксидантами в сторону усиления свободнорадикальных процессов, в т.ч. и в системе ячмень - возбудитель сетчатой пятнистости, где между партнерами устанавливаются факультативные паразитические связи. В результате запускается интенсивное некрозообразование клеток растения, что создает благоприятную среду для обитания *D. teres* – некротрофа по способу питания. Устойчивость же проявляется в период пребывания ткани хозяина в жизнедеятельном состоянии. От степени пролонгированности данного состояния зависит продолжительность стадии биотрофности *D. teres*. Эти данные согласуются и с характером изменений в гормональной активности растения-хозяина. При формировании факультативных отношений наблюдается прямая зависимость между повышением уровня АБК и интенсивностью перекисного окисления липидов мембран. АБК, как сигнальная молекула, сдвигает гормональный баланс в сторону снижения ростостимулирующей активности и разрушения мембран растительных клеток. По-видимому, увеличение содержания АБК в инфицированных *D. teres* листьях ячменя приводит к сдвигу метаболизма растения-хозяина в сторону усиления окислительных процессов, к некрозообразованию и развитию болезни. Долговременное поддержание высокой концентрации АБК сопровождается формированием совместимых взаимоотношений между патогеном и растением-хозяином (даже у устойчивого сорта ячменя) и обусловлено значительным продуцированием АБК самим грибом. Вероятно, роль грибной АБК заключается в том, что она служит сигналом, трансдукция которого ингибирует рост мицелия, а, следовательно, переход гриба к спороношению и способствует многократному воспроизводству его в течение периода вегетации.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ *CERATOPHYLLUM DEMERSUM* L. ПРИ ДЕЙСТВИИ ИОНОВ КАДМИЯ В УСЛОВИЯХ ГИПОТЕРМИИ

Efficiency of *Ceratophyllum demersum* L. antioxidant system under Cd^{2+} exposure at hypothermia conditions

Поморцева К.А., Борисова Г.Г.

Федеральное государственное автономное учреждение высшего профессионального образования «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», Екатеринбург, Россия
pomor-a.ksieniia@list.ru

В природных условиях растительные организмы подвержены влиянию абиотических, биотических, а также антропогенных факторов среды. Являясь прикрепленными формами, растения не имеют возможности избегать неблагоприятных воздействий, поэтому в процессе эволюции им приходится вырабатывать различные стратегии защиты.

С ростом техногенной нагрузки отмечается увеличение количества токсичных соединений в почве, воде, атмосфере. Несмотря на наличие у растений специальных механизмов, участвующих в детоксикации тяжелых металлов, они часто оказываются недостаточно эффективными (особенно в отношении кадмия). К тому же защитно-приспособительные реакции растений находятся в зависимости от многих факторов, включая микроклиматические условия. Для территории Урала характерны частые колебания температуры даже в летний период. Следовательно, изучение влияния повышенных доз металлов при низких температурах на жизнедеятельность растений, в том числе водных, является актуальным. В связи с этим цель работы – оценка про- и антиоксидантных реакций гидрофитов в ответ на действие Cd^{2+} в условиях гипотермии.

Объектом исследования был выбран *Ceratophyllum demersum* L. (роголистник погруженный). Интерес к данному виду обусловлен его высокой аккумулятивной способностью. Растения инкубировали в течение суток в дистиллированной воде с добавлением сульфата кадмия в концентрациях 1 и 10 мг/л (в расчете на ион Cd^{2+}) при комнатной температуре и 4°С. Для создания условий гипотермии опытные образцы помещали в холодильную камеру, предварительно установив необходимый температурный режим. В качестве контроля использовали растения, инкубированные в дистиллированной воде.

Количество кадмия в биомассе роголистника определяли на атомно-абсорбционном спектрометре. Степень интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ), активность гваякол-пероксидазы (ГП) и содержание растворимого белка оценивали спектрофотометрическим методом. Каждое измерение проводили в трех аналитических повторностях из усредненной пробы листьев. Обработка данных осуществлена в MS Excel и Statistica 6.0.

Добавление кадмия в среду инкубирования привело к закономерному увеличению его количества в растительном материале. Так, накопление металла в растениях за сутки повысилось в 16 раз при их экспозиции с Cd^{2+} (1 мг/л) по сравнению с контролем. При концентрации кадмия 10 мг/л его адсорбция роголистником возросла в 22 раза по сравнению с растениями, инкубированными при концентрации 1 мг/л.

Наибольшая интенсивность пероксидации липидов была в варианте с кадмием (1 мг/л) при низких положительных температурах (4°С). Окисление липидов было на 13% выше по сравнению с аналогичным вариантом при комнатной температуре. Вероятно, это связано с развитием окислительного стресса вследствие снижения резистентности у исследованных растений при одновременном действии стрессоров. Инкубация в среде, содержащей 10 мг/л Cd^{2+}, не привела к изменению в содержании продуктов ПОЛ. По-видимому, существует определенный диапазон концентраций кадмия, при котором низкие положительные температуры усиливают стрессовые реакции у растительных организмов.

Активизация антиоксидантных ферментов нацелена на устранение избытка активных форм кислорода в клетках, что способствует снижению окислительных повреждений. При комнатной температуре активность гваякол-пероксидазы (в расчете на 1 г сухого веса) при концентрации Cd^{2+} 10 мг/л увеличилась в 1,3 раза по сравнению с другими вариантами. Возможно, это произошло за счет индукции синтеза белков. Это подтверждается данными по содержанию растворимого белка в листьях растений: в присутствии Cd^{2+} отмечено существенное повышение его количества по сравнению с контрольным вариантом.

В условиях гипотермии активность ГП в листьях растений, инкубированных в среде без кадмия, снизилась на 23% по сравнению с контролем (при комнатной температуре). В присутствии ионов кадмия наблюдалось значительное повышение активности фермента, в то время как содержание растворимого белка уменьшилось: при концентрации Cd^{2+} 1 мг/л оно было минимальным. Очевидно, что возрастание активности ГП связано с использованием растениями конститутивного пула фермента, а не с синтезом белков.

В результате проведенной работы установлено, что при комнатной температуре в градиенте концентрации ионов кадмия происходило возрастание активности ГП и содержания растворимого белка в листьях роголистника. При инкубировании растений в среде с ионами кадмия в условиях гипотермии эффективность антиоксидантной защиты была ниже.

ГОДОВАЯ ДИНАМИКА СТРЕССОВЫХ БЕЛКОВ–ДЕГИДРИНОВ У БЕРЕЗ ЯКУТИИ

Annual dynamics of stress proteins dehydrins in birches in Yakutia

Пономарев А.Г., Перк А.А., Бубякина В.В., Татаринова Т.Д., Васильева И.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологических проблем криолитозоны Сибирского отделения Российской академии наук, Якутск, Республика Саха (Якутия), Россия
anaponomarev@yandex.ru

Благодаря высокой степени экологической приспособляемости разные виды берез занимают доминирующие позиции в растительных сообществах криолитозоны. Экологическая пластичность берез непосредственно связана с их генетическим разнообразием, а также обусловлена соответствием их фаз роста и развития конкретным климатическим условиям. Резко континентальный с выраженными морозами климат Якутии выдвигает особые требования к адаптационному потенциалу растений. В первую очередь, выживаемость северных видов зависит от формирования оптимальных параметров криоустойчивости, которые определяются, в том числе, экспрессией генов, кодирующих регулируемые холодом полипептиды. К последним относятся водорастворимые стрессовые белки-дегидрины, задействованные в стабилизации макромолекул и мембран растений.

Целью настоящей работы явилось выявление особенностей внутривидового полиморфизма и сезонной динамики дегидринов, ассоциированных с процессами криотолерантности почек – наиболее устойчивого органа растений. В качестве объекта исследования служила береза повислая (*Betula pendula* Roth), представленная в Восточной Сибири своей разновидностью, относимой рядом ученых к отдельному виду – березе плосколистной (*B. platyphylla* Sukacz.). Сбор материала проводили в течение 2009-2014 гг. в Центральной (окрестности г. Якутска) и Южной Якутии (окрестности г. Алдан). Для сравнения отдельные образцы растений были собраны в Иркутской области. Идентификацию дегидринов выполняли с помощью поликлональных антител против их консервативного K-сегмента (EKKGIME/DKIKEKLPG) («Agrisera», Швеция). Дегидрины детектировали при помощи кроличьих антител, конъюгированных с щелочной фосфатазой («Sigma», США).

Все изученные экземпляры берез были оценены по морфологическим признакам, включающим степень опушенности, бородавчатости и наличия липидов (смолянистости) стебля молодых побегов, почечных чешуй и листовой пластинки в целом и ее отдельных частей, а также текстуры, формы и соотношения элементов листа. На основании степени выраженности каждого из признаков были рассчитаны величины гибридного индекса (ГИ), позволяющего судить об уровне фенотипических изменений отдельных растений. Растения двух местообитаний выявили достаточно близкие значения ГИ, которые для центральноякутских образцов составили 30-35, а для алданских – 29-38 балла. Это указывает на большую схожесть признаков изучаемых популяций берез с типичными признаками березы повислой (*B. pendula*).

У исследованных берез, произрастающих в Центральной и Южной Якутии, а также Иркутской области, были найдены две группы дегидринов в интервале молекулярных масс 14-21 кДа и 56-73 кДа. Среди низкомолекулярных дегидринов 17 кДа полипептид встречался повсеместно. Относительно реже у берез, наряду с ним, наблюдались другие формы – 14, 15, 18 и 21 кДа. Наибольший интерес представляют низкомолекулярные полипептиды, особенно 17 кДа дегидрин, которые проявляют выраженную сезонную динамику, и в этой связи, вероятно, могут быть связаны с формированием морозоустойчивости растений. Напротив, относительно высокомолекулярные дегидрины, среди которых превалировали 66 и 69 кДа белки, наблюдались круглогодично. Данные по полиморфизму индивидуальных берез были также дополнены и подтверждены суммарным анализом 80 растений (по 1 почке от каждой березы), собранных вдоль более чем километрового маршрута (трансекта).

При изучении сезонной динамики обнаружена связь между исчезновением и, соответственно, появлением низкомолекулярных дегидринов, в основном, 17 кДа дегидрина, в почках со сроками развертывания весной и пожелтения-опадения листьев у индивидуальных растений берез *B. pendula* с разным фенотипом (рано-, средне- и поздневегетирующие). При этом у разных по феноспектру растений исчезновение дегидринов коррелировало с появлением первых зеленых листьев. У берез Центральной Якутии низкомолекулярные дегидрины полностью исчезали в конце мая и появлялись в августе. У более ранневегетирующих берез полное исчезновение дегидрина с мол. м. 17 кДа происходило в более ранние сроки, чем у поздневегетирующих. Обратный процесс накопления «зимних» дегидринов в почках изученных берез начинался в конце августа и был связан со временем пожелтения листьев и листопадом у конкретных растений. В дальнейшем низкомолекулярные дегидрины поддерживались на стабильно высоком уровне в течение всей зимы. Повсеместное наличие 17 кДа дегидрина у исследованных берез может указывать на более древний и эволюционно консервативный его характер, чем другие дегидрины в этой области, найденные у отдельных берез. Данный дегидрин может претендовать на роль кандидата в маркеры морозоустойчивости берез.

ЦИТОМОРФОЛОГИЯ И ВЛИЯНИЕ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА НА МОРФОГЕНЕЗ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР *TAXUS BACCATA* L.

Cytomorphology and effect of growth regulators on the morphogenesis of callus cultures of *Taxus baccata* L.

Попкова Л.Л.[1], Теплицкая Л.М.[2]

ФГАО ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского»
[1] Академия биоресурсов и природопользования, Симферополь, п. Аграрное, Россия; ophrys97@rambler.ru
[2] Таврическая академия, Симферополь, Россия; lm_teplitskaya@ukr.net

Изучение влияния различных регуляторов роста на морфогенез каллусных культур тиса ягодного проводилось с целью дальнейшего отбора морфогенного каллуса и получения продуктивных штаммов, способных синтезировать таксол, который обладает противоопухолевым действием. Поскольку *Taxus baccata* является редким охраняемым видом, то культивирование его тканей и органов в условиях in vitro, изучение процессов морфогенеза и создание штаммов каллусных культур, синтезирующих ценные вторичные метаболиты весьма актуально.

Для определения оптимальных эксплантов, способных к активному каллусообразованию, в условия in vitro вводили фрагменты листовой пластинки, фрагменты молодых побегов, зиготические зародыши на базовые питательные среды Гамборга-Эвелега (B_5) и Мурасиге-Скуга (МС), модифицированные по составу и концентрации регуляторов роста. Через 10-15 сут преимущественно на раневых поверхностях эксплантов появлялся первичный каллус, представляющий собой рыхлую массу светло-желтых клеток. Установлено, что максимальное образование каллуса происходило на питательных средах B_5 и МС, содержащих 2,0 мг/л 2,4-Д, 4,0 мг/л НУК, 1,0 мг/л 6-БАП. Оптимальными эксплантами являлись фрагменты молодых побегов, где каллусообразование достигало 84% на питательной среде B_5. После активного нарастания на 30-40 сутки первичные каллусы переносили на свежие питательные среды (B_5), в некоторых вариантах добавляли 0,5 мг/л кинетина. В результате морфологических исследований установлено, что культивируемые каллусные культуры *T. baccata*, полученные из различных типов эксплантов, способны к образованию следующих типов каллусов: серовато-коричневого цвета из всех типов эксплантов, неспособного к гистогенезу и эмбриогенезу; светло-зеленоватого каллуса из фрагментов листовой пластинки и молодых побегов, способного к морфогенезу; матового каллуса из зародышей, способного к эмбриоидогенезу. Для более детального выяснения различий между образующимися типами каллусных культур проводились цитологические и гистологические исследования.

Цитологические исследования серовато-коричневого каллуса показали, что он состоит из скоплений структур, отходящих от общего центра в виде «звезды», содержащие элементы проводящей системы, на концах выступов расположены зоны меристемоподобных клеток. Эти зоны, возможно, обеспечивают нарастание каллусной массы, но не являются апикальными меристемами, обеспечивающими процесс регенерации. Аналогичное строение каллусных тканей, не обладающих способностью к регенерации характерно для различных видов растений. Каллусные культуры зеленоватого цвета представляют собой достаточно организованные образования. Поверхностные клеточные слои этих образований состоят из мелких клеток меристематического типа. В глубине очагов морфогенеза заметна дифференцировка проводящей системы. Формирование новых очагов морфогенеза происходит путем образования выростов, состоящих из таких же мелких клеток, отпочковывающихся от «старого» очага морфогенеза. Гистологическое исследование матового каллуса светлого цвета показало, что он состоит из клеток с сильно окрашивающимися ядрами и цитоплазмой с крупными гранулами, сходными по внешнему виду с крахмальными зернами. Такие клетки характерны для каллусов, обладающих эмбриоидогенными потенциями. На срезах белого матового каллуса обнаружены многоклеточные образования, напоминающие эмбриоидоподобные структуры. Эти образования различались между собой размерами и степенью дифференциации и представляли, вероятно, разные стадии эмбриогенеза. Они возникали, очевидно, из поверхностных клеток каллуса. В процессе их развития отмечены стадии многоклеточной дифференциации точек роста.

Изучение влияния различных сочетаний и концентрации регуляторов роста на морфогенез пассируемого каллуса *T. baccata* показали, что способные к морфогенезу каллусные культуры, полученные из всех типов эксплантов, имели сходные тенденции. Культивируемые каллусы на среде B_5 без кинетина с низком содержанием регуляторов роста (0,5-1,0 мг/л 2,4-Д и 0,1 мг/л 6-БАП) активно нарастали, образовывали гистологические элементы и эмбриоиды, то есть обладали высоким морфогенетическим потенциалом. Однако при повышении концентрации 2,4-Д до 2,0 мг/л и 6-БАП до 0,2 мг/л отмечался только каллусогенез и проявление процессов морфогенеза не отмечено. На питательной среде, дополненной 0,1 мг/л 2,4-Д с повышенным содержанием 6-БАП (1,0 мг/л) отмечался гистогенез и появление меристематических очагов. Данный факт представляет значительный интерес, так как показывает принципиальную возможность получения клеточных культур, способных к регенерации. Таким образом, концентрация регуляторов роста оказывает значительное влияние на процессы морфогенеза в культивируемых каллусных культурах *Taxus baccata.*

АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА В МИТОХОНДРИЯХ: ОБРАЗОВАНИЕ И РОЛЬ В РЕГУЛЯЦИИ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ

Reactive oxygen species in mitochondria: production and role in regulation of respiration

Попов В.Н.

Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия; pvn@bio.vsu.ru

Важную роль в регуляции жизнедеятельности клетки играют процессы так называемого «свободного окисления». Под этим термином понимают как первично (изначально) не сопряженное с запасанием энергии, так и разобщенное дыхание. Наряду с терморегуляцией, одной из возможных функций свободного окисления считается его участие в регуляции метаболизма АФК.В наших исследованиях мы показали, что добавление перекиси водорода или индуктора образования активных форм кислорода (АФК) антимицина А к культуре клеток вызывает повышение уровней мРНК для генов aox1a, ant, и pump. Аналогично увеличение транскрипции этих генов наблюдается для зеленых растений при пониженных температурах. Следует также отметить, что в культуре клеток томата ATP/ADP антипортер индуцировался уже при низкой концентрации перекиси, а при более высоких концентрациях H_2O_2 резко выросло содержание мРНК для разобщающего белка. Оба эти перносчика способны к индуцированному жирными кислотами разобщению дыхания и окислительного фосфорилирования при адаптации растений к холоду, но конституитивно экспрессируемый антипортер активируется, а разобщающий белок оказывается вовлеченным в процесс разобщения только при значительных повреждениях клетки. Согласно представленных результатов, в случае окислительного стресса белки AOX и NDB коэкспрессируются в тканях томата, а активные формы кислорода служат в качестве вторичных мессенджеров их коэкспрессии.

Гипотеза о том, что несопряженная альтернативная оксидаза митохондрий растений действует как антиоксидант обороны механизма, была подтверждена в наших экспериментах на изолированных митохондриях из семядолей проростков сои и гороха. Было показано, что ингибиторы AOX салицилгидроксамат и пропилгаллат сильно стимулировали образование H_2O_2 этими митохондриями.

Делается заключение, что в условиях стресса наблюдается резкое увеличение концентрации АФК. Такой «окислительный взрыв» играет роль вторичного мессенджера для индукции не только антиоксидантных ферментов, но также белков, участвующих в свободном (несопряженном и разобщенном) дыхании. Активация этих путей приводит к резкому ограничению производства АФК и предотвращает окисление клеточных компонентов и снижение митохондриального мембранного потенциала. Этот механизм обратной связи является важным стратегии общей устойчивости растений к абиотическому и биотическому стрессу.

Исследование поддержано Министерством образования и науки Российской Федерации (Государственное задание № 6.149.2014/К).

РОЛЬ ИНВЕРТАЗЫ КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ В НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОМ ЗАКАЛИВАНИИ РАСТЕНИЙ ТАБАКА

Role of cell-wall invertase in low-temperature hardening of tobacco plants

Попов В.Н., Антипина О.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; trunova@ippras.ru

Жизнеспособность растений в условиях низких температур обеспечивается комплексом физиологических процессов, имеющих своей целью адаптацию растительного организма к изменяющимся условиям окружающей среды. Возможность адаптации растений к гипотермии зависит от сбалансированности ключевых звеньев метаболизма, особенно от характера углеводного обмена. Одной из адаптивных реакций на низкую температуру является накопление в клетках сахаров, способных повышать устойчивость растений к гипотермии за счет осмотического действия, уменьшающего интенсивность межклеточного льдообразования; криопротекторного действия на клеточные мембраны; метаболического действия как источника энергии и предшественников при синтезе других веществ с защитным эффектом. Использование основной транспортной формы сахаров – сахарозы в качестве источника углерода и энергии зависит от активности гидролитического фермента инвертазы. При этом, локализованная в клеточной стенке и связанная с ней ионными связями кислая инвертаза играет важную роль в распределении водорастворимых углеводов по органам и тканям растений. Известно, что в растениях табака сахароза поступает из клеток мезофилла в клетки флоэмы через апопласт. Функционирующая в этом компартменте инвертаза клеточной стенки с кислым оптимумом pH расщепляет транспортную сахарозу, после чего образовавшиеся гексозы поступают обратно в клетки мезофилла, увеличивая содержание сахаров в листьях.

Исследовали особенности низкотемпературного закаливания (6 суток при 8°С) теплолюбивых растений табака (*Nicotiana tabacum* L., сортотип *Samsun*) в связи с изменением активности инвертазы клеточной стенки. Нами определено содержание сахарозы, глюкозы и фруктозы в апопласте листьев растений табака за время холодового закаливания. До закаливания в апопласте листьев растений преобладали глюкоза (42 мкг/г сыр. массы) и сахароза (36 мкг/г сыр. массы), содержание фруктозы было незначительным (5 мкг/г сыр. массы). Закаливание приводило к снижению количества глюкозы на 30%, фруктозы – на 20%, а сахарозы – в 3,5 раза. Столь значительное снижение содержания сахарозы в апопласте листьев табака за время закаливания, на наш взгляд было связано с изменением активности инвертазы клеточной стенки, которая осуществляет гидролиз сахарозы до глюкозы и фруктозы. После 6 суток при 8°С в листьях табака активность инвертазы клеточной стенки возрастала на 50%, в то время как в корневой системе активность фермента снижалась почти в 2 раза. Таким образом, в результате закаливания активность инвертазы клеточной стенки в листьях стала превышать активность данного фермента в корнях более чем на 40%.

Почти двукратное снижение активности данного фермента позволяет сделать предположение о нарушении процесса разгрузки флоэмы в корнях при низких положительных температурах. Считается, что инвертаза клеточной стенки является ключевым ферментом, участвующим в разгрузке флоэмы. Расщепляя сахарозу, она препятствует ее обратной загрузке во флоэму и, таким образом, способствует быстрому использованию моносахаридов в метаболических процессах. Хотя обнаруженные нами изменения в активности апопластной инвертазы в листьях и корнях при закаливании диаметрально противоположны, в обоих случаях они могут приводить к одинаковому эффекту – торможению оттока ассимилятов из листьев в корни.

Таким образом, следует констатировать, что инвертаза клеточной стенки может играть существенную роль в процессе закаливания теплолюбивых растений табака. Возрастание активности инвертазы клеточной стенки в листьях должно приводить к торможению оттока ассимилятов из листьев в корни, что может являться причиной повышения содержания сахаров в листьях и неспособности корневой системы табака к их накоплению при низких положительных температурах.

Такие особенности закаливания исследуемых растений определяются, по-видимому, тем, что стратегия их низкотемпературной адаптации направлена на формирование повышенной холодоустойчивости надземной части, даже в ущерб корневой системе, которая в местах исконного произрастания теплолюбивых растений табака практически не подвергается повреждающему действию низких температур.

ВЗАИМОСВЯЗЬ СТРУКТУРНЫХ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ СЕЯНЦЕВ ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО ПРИ АДАПТАЦИИ К АНТРОПОГЕННОМУ ФАКТОРУ

The interrelation of structural and functional changes of oak seedlings during adaptation to anthropogenic factor

Попова В.Т., Попова А.А.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Воронежская государственная лесотехническая академия», Воронеж, Россия
logachevaaa@rambler.ru

Лесные сообщества составляют уникальную систему не только с биологической точки зрения, но и с практической, так как обеспечивают человечество ресурсами для существования и развития (Бродский, 2006). Каждый вид древесных растений имеет свою амплитуду адаптационных возможностей, которая в меру потенциальных способностей растений проявляется весьма различно в разных условиях внешней среды и, в частности, в разных условиях загазованности атмосферы. Среди многочисленных стрессовых факторов одно из важнейших мест занимает антропогенное воздействие, которое обуславливается не только данным фактором, но и тем, что в пригородных лесах нарушается целый комплекс параметров, непосредственно определяющих продуктивность и устойчивость растений.

Дуб черешчатый является лесообразующей породой Центрального Черноземья, при этом несет большую нагрузку, являясь основой многих биогеоценозов, поддерживая существование многих видов растений и животных. Немалую роль играет данный вид и в рекреационном и прикладном направлениях, становясь востребованным местом отдыха человека, давая ценный материал разным отраслям промышленности.

В нашей работе мы сосредоточили свое внимание на обсуждении влияния автотранспортного комплекса на анатомические и цитологические показатели дуба черешчатого, так как суммарный годовой выброс в атмосферу загрязняющих веществ в Воронежской области составляет в настоящее время 414,5 тыс. т. (Овчинникова, 2008).

Экспериментальные исследования проводились в дубравах в районе 491 км автодороги Москва-Воронеж, удаленных от г. Воронеж, расположенный в 53 квартале Животиновского лесничества Учебно-Опытного лесхоза Воронежской государственной лесотехнической академии. Исследования проводили на двух опытных площадях: в глубине лесного массива (в 2-3 км от автодороги) и у автомагистрали.

В результате полевых и лабораторных исследований особенностей развития морфологических и анатомических структур листа дуба черешчатого в разных условиях загазованности установлено, что нарушается морфогенез тканей листа. У листьев дуба черешчатого повышение загазованности вызывало снижение общей толщины листовой пластинки, величина которой уменьшилась на почти на 60%. Подробный структурный анализ всех тканей листа при разной степени загазованности показал, что размеры клеток всех изучаемых тканей изменяются в зависимости от уровня загазованности.

Клетки эпидермиса у листьев дуба черешчатого с криволинейными или волнистыми стенками. Максимальных размеров эпидерма достигает в контрольном варианте, где наблюдаются более благоприятные условия. Ухудшение условий местообитания сказывается на размерах как верхней, так и нижней эпидермы. Толщина верхней и нижней эпидермы снижалась примерно на 30%.

Была также проведена оценка цитогенетического полиморфизма семенного потомства деревьев дуба черешчатого в популяциях деревьев, произрастающих на территории Усманского бора. Среди семенного потомства дуба выделены группы проростков с разной степенью мутабильности (мутабильные, слабомутабильные, промежуточные). На территории у автомагистрали выделяется больше групп проростков, за счет увеличения проростков из мутабильных групп, где наблюдается увеличение клеток с патологическими митозами, а так же появление агглюинаций хромосом и асимметричных митозов.

Таким образом, снижение длины и ширины листовой пластинки, снижение толщины листовой пластинки при высокой степени загазованности атмосферы, которая происходит за счет уменьшения толщины мезофилла, особенно столбчатого, одновременно уменьшается толщина эпидермы, как верхней, так и нижней, хотя и в меньшей степени.

АКТИВНОСТЬ ГЕНОВ ГЛУТАТИОН-S-ТРАНСФЕРАЗ В ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЯХ ТАБАКА В УСЛОВИЯХ СОЛЕВОГО СТРЕССА, А ТАКЖЕ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ КАДМИЯ

Glutathione-S transferase genes activity in tobacco transgenic plants under salt stress and at different cadmium concentrations

Постригань Б.Н., Князев А.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа, Республика Башкортостан, Россия; postrigan@bk.ru

Проблеме устойчивости растений к тяжелым металлам и другим стрессовым условиям внешней среды на протяжении многих лет во всем мире уделяется значительное внимание. Причины этого кроются в том, что культивируемые растения подвергаются различным стрессовым воздействиям, вызванным активностью широкого спектра ксенобиотиков, тяжелых металлов. Они являются опасными экотоксикантами, тормозящими, с одной стороны, рост самих растений, а с другой - при попадании в пищу оказывающими вредное воздействие на человеческий организм. Выяснение механизмов устойчивости растений к различным средовым факторам, например тяжелым металлам, крайне важно, поскольку, помимо теоретического здесь имеется и практический интерес в виде создания методами генетической инженерии устойчивых и сильных растений. С этой целью в растения вводят дополнительно гены, определяющие устойчивость к тяжелым металлам и металлоидам, гербицидам и прочим экотоксикантам. В связи с этим привлекательным выглядит создание растений несущих дополнительные гены глутатион-S-трансфераз (GST). Это ферменты, ответственные за конъюгацию сульфгидрильной SH2 группы с электрофильными атомами C, N, S, O молекул ксенобиотиков. GST катализирует реакцию глутатиона с различными алифатическими, ароматическими, эпоксидными и гетероциклическими радикалами экзогенных повреждающих веществ. Таким образом, каталитическая активность GST обеспечивает клетку механизмом защиты от вредного воздействия таких веществ. В связи с этим, нами были идентифицированы гены *AtGST* арабидопсиса, *BnGST* рапса и на их основе под контролем вирусного промотора 35S в составе генетических конструкций вектора pCAMBIA 1301 созданы модельные трансгенные растения табака. Затем, с надежно подтвержденными линиями таких растений проводились морфометрические эксперименты. Согласно полученным данным модельные растения характеризовались повышенными ростовыми характеристиками относительно контрольных, нетрансгенных растений. В частности различия наблюдались по длине стебля и площади листа. Затем листовые пластинки контрольных и трансгенных растений подвергались воздействию различных концентраций водных растворов NaCl. Были выбраны концентрации от 100 мкМ до 500 мкМ и эксперимент проводился в течение 3 суток. В результате было показано протективное действие в результате активности исследуемых генов по сравнению с контролем, за счет более сглаженного изменения сырой массы листовых пластинок. Более интенсивное изменение сырой массы листовых пластинок наблюдалось в контрольных вариантах. Наиболее констрастные результаты были получены для вариантов с концентрациями от 200 до 300 мкМ. В эксперименте с 500 мкМ достоверных отличий получено не было. Равно как и между трасгенами в наиболее значимых концентрациях соли.

Во втором эксперименте проводили выращивание в течение полутора месяцев контрольных и трансгенных растений на почвах с различным содержанием кадмия, как наиболее типичного представителя тяжелых металлов. Нами были выбраны концентрации от 100 до 400 мкМ Cd. Целью эксперимента было моделирование условий произрастания на почвах с экстремально высокими концентрациями кадмия когда растение остро отреагирует на стресс, вызванный воздействием тяжелого металла. Оценивалась выживаемость и жизнеспособность растений через их морфологические параметры, а также их накопительные свойства. По всем концентрациям кадмия все линии трансгенных растений показали уверенный рост и развитие, достоверно мало отличимые от таковых параметров контрольной группы. В то же время рост и развитие контрольной группы были подавлены, в особенности на концентрациях в 300 и 400 мкМ кадмия. Так же следует отметить, что практически во всех группах и линиях трансгенных растений по исследуемым генам не наблюдалось различий по форме и окраске листьев. В контроле, особенно на высоких концентрациях наблюдалось пожелтение листьев, часть листьев подсохла. Однако количественно, по накоплению кадмия, трансгенные растения несущие гены AtGSH и BnGSH мало отличались от контрольных по всем концентрациям, следовательно такие растения не проявляют свойств гипераккумуляторов.

ВАКУОЛЯРНАЯ РЕДОКС-СИСТЕМА НА ПРИМЕРЕ ВАКУОЛЕЙ КЛЕТОК КОРНЕПЛОДОВ СТОЛОВОЙ СВЕКЛЫ (*BETA VULGARIS* L.)

Vacuolar redox system of red beet root cells (*Beta vulgaris* L.)

Прадедова Е.В., Нимаева О.Д., Саляев Р.К.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия
praded@sifibr.irk.ru

Вклад центральной вакуоли в поддержание редокс-гомеостаза растительной клетки в последние годы довольно активно обсуждается. Однако сведений о вакуолярных редокс-системах, которые могли бы обеспечивать этот вклад, в действительности очень мало. В ходе исследования, проводимого нами на изолированных вакуолях клеток корнеплодов столовой свеклы (*Beta vulgaris* L.), удалось выявить ряд редокс-кофакторов и редокс-ферментов, способных, как мы полагаем, кофункционировать в редокс-цепях, образуя единую внутривакуолярную редокс-систему. Наличие определенных редокс-элементов в вакуолярном компартменте позволяет предположить вероятную организацию цепей переноса электронов и вероятные «общие узлы» такого переноса, как правило, ими являются мобильные доноры электронов. На сегодня в вакуолях нами выявлены такие редокс-элементы, относящиеся к мобильным донорам электронов, как глутатион (GSH), NADH, аскорбиновая кислота, а также редокс-ферменты, в числе которых фенольная пероксидаза (POX, EC 1.11.1.7), Cu,Zn-супероксиддисмутаза (SOD, EC 1.15.1.1) и глутатионредуктаза (GR, EC 1.8.1.7).

Наличие в вакуолярном содержимом POX свидетельствует об активной утилизации пероксида водорода внутри вакуолярного пространства, а совместное присутствие POX и SOD, напротив, предполагает возможную его генерацию. В связи с этим один из вероятных редокс-путей (направленных потоков электронов) с участием двух ферментов может начинаться с взаимодействия POX и O_2, которое при определенных условиях приводит к формированию $O_2^{\cdot -}$, а дисмутация $2O_2^{\cdot -}$ посредством SOD – к образованию пероксида водорода, дальнейшее восстановление которого до H_2O возможно при участии POX, аскорбата и GSH. Мы установили, что в изолированных вакуолях образуется H_2O_2. На его активное образование заметное влияние оказывали pH-условия среды.

Можно также ожидать в вакуолярном компартменте формирование редокс-цепей ферментами глутатионовой системы, а именно GR и глутатион-S-трансферазами (GST, EC 2.5.1.18), последние не являются редокс-ферментами, но относятся к этой системе. Эти ферменты выявлены в вакуолях клеток корнеплодов столовой свеклы. Субстратом для GST в тиолиазных реакциях так же, как и в трасферазных, служит GSH. Дисульфид глутатиона, образуемый в ходе тиолиазных реакций, может восстанавливать вакуолярная GR. Коферментом для этого фермента по всей видимости является NADH. GR вакуолей обнаружила способность к взаимодействию с этим динуклеотидом в слабо-кислых условиях, характерных для вакуолярной среды. Таким образом, главными мобильными донорами электронов в этом редокс-пути являются GSH и NADH. Глутатион в качестве мобильного донора электронов может функционировать и в других редокс-цепях, играя роль «общего узла» или редокс-элемента, связывающего редокс-цепи в единую сеть.

Очевидно, что в центральной вакуоли, как и в любой точке клеточного пространства, протекают редокс-реакции с участием редокс-белков, способных формировать редокс-цепи, в рамках которых проходят редокс-пути переноса электронов. Редокс-цепи объединены мобильными донорами электронов в единую редокс-систему. Исследование редокс-элементов и моделирование вакуолярных редокс-цепей позволит выявить редокс-процессы, характерные для вакуоли, что расширит представление о роли этого компартмента в редокс-метаболизме и, возможно, редокс-сигналинге растительной клетки.

Исследование выполняется при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 14-44-04059 р_сибирь_а).

ДИНАМИКА И ПРОГНОЗ ПОКАЗАТЕЛЕЙ CO_2/H_2O ОБМЕНА ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ ТАЕЖНОЙ ЗОНЫ СЕВЕРО-ЗАПАДА РОССИИ В УСЛОВИЯХ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИРОДНОЙ СРЕДЫ И КЛИМАТА

Dynamics and forecast of CO_2 and H_2O exchange in woody plants in the boreal zone of Northwest Russia under environment and climate change

Придача В.Б.[1], Сазонова Т.А.[1], Ольчев А.В.[2]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт леса Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия; pridacha@krc.karelia.ru*

[2] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук, Москва, Россия; aoltche@gmail.com*

Происходящие изменения климата и антропогенная деятельность оказывают заметное влияние на развитие и динамику наземных экосистем. Отклик растений на изменения условий внешней среды проявляется в первую очередь в изменении интенсивности их биофизических и биохимических реакций, важным индикатором которых является скорость газообмена CO_2 (фотосинтез и дыхание) и обмена H_2O (транспирация) между растениями и окружающим воздухом. Для прогноза возможной реакции различных растительных сообществ необходимо оценить масштабы природной изменчивости и чувствительность показателей CO_2 и H_2O обмена к изменению параметров внешней среды, в частности, приходящей солнечной радиации, содержания углекислого газа в воздухе, температуры и влажности воздуха, условий почвенного увлажнения и обеспеченности элементами минерального питания. Полученные показатели могут быть использованы как в качестве индикаторов при оценке чувствительности растений к внешним воздействиям, так и в качестве параметров в математических моделях продукционного процесса и водного цикла наземных экосистем. В рамках данного исследования была проведена оценка влияния факторов внешней среды на показатели CO_2 и H_2O обмена листа сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.), ели европейской (*Picea abies* (L.) Karst.) и березы повислой (*Betula pendula* L.) в условиях европейской части среднетаежной зоны России (Республика Карелия).

Измерения параметров фотосинтеза, дыхания, устьичной проводимости листа и водного потенциала облиственных побегов сосны, ели и березы проводили с помощью портативной фотосинтетической системы LI-COR 6400XT (LI-COR Inc., США) и камеры давления Plant Moisture Vessel SKPM 1400 (Skye Instruments Ltd., Великобритания) на экспериментальных площадях Института леса КарНЦ РАН (южная Карелия) в вегетационной динамике в 2009-2014 гг.

В результате исследования динамики переменных CO_2/H_2O и минерального обменов на фоне изменяющихся гидрометеорологических переменных установили диапазоны факторов среды (температура, относительная влажность воздуха и интенсивность солнечной радиации), обеспечивающие максимальную интенсивность основных физиологических процессов сосны, ели и березы. Показано, что высокая интенсивность этих процессов наблюдается в широких пределах варьирования гидрометеорологических переменных, что свидетельствует о приспособленности исследуемых видов к широкому диапазону условий вегетации. По результатам измерений, проведенных с помощью портативной фотосинтетической системы, провели параметризацию фотосинтеза и устьичной проводимости сосны, ели и березы для использования в модели Mixfor-SVAT (Olchev et al., 2002, 2008). Программа измерений в полевых условиях включала получение углекислотных и световых кривых фотосинтеза листьев при разных температурах воздуха и температурных зависимостей темнового дыхания. Рассчитывали значения максимальной скорости карбоксилирования РБФК/О (Vc_{max}), скорости переноса электронов для регенерации акцептора РБФ при световом насыщении (J_{max}) и скорости утилизации триозофосфатов (*TPU*). Также были получены значения максимальной скорости поглощения CO_2, скорости темнового выделения CO_2 и углекислотный компенсационный пункт, что позволило провести сравнительную оценку CO_2/H_2O-обмена разных видов растений в естественных условиях произрастания с целью выявления механизмов, определяющих ответную реакцию растений на изменяющиеся условия внешней среды. Температурные зависимости Vc_{max}, J_{max} и *TPU* были получены путем статистического анализа множества значений исследуемых показателей при разных температурах листа с использованием уравнений, предложенных группой исследователей (Medlin et al., 2002; Sharkey et al., 2007). На основании температурных зависимостей были получены предварительные оценки Vc_{max}, J_{max} и *TPU* для выбранной референтной температуры 25°C. Результаты модельных экспериментов показали, что ожидаемые изменения климата и смены растительности могут оказать существенное влияние на величины эвапотранспирации, транспирации, нетто обмена CO_2, чистой продукции и дыхания лесных экосистем Карелии в условиях Северо-Запада России. Однако, несмотря на ожидаемое потепление и увлажнение климата, модельные эксперименты показывают относительно слабое увеличение годового испарения и снижение годовой транспирации, что, вероятно, обусловлено ожидаемым снижением приходящей солнечной радиации и дефицита водяного пара.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (гранты 09-04-00299-а, 10-04-10122-к, 11-04-10100-к, 13-04-00827-а, 14-04-10076-к).

АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ ФЕРМЕНТЫ АСКОРБАТ-ГЛУТАТИОНОВОГО ЦИКЛА, В РАСТЕНИЯХ РИСА ПРИ АНОКСИИ И ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ

Analysis of expression of genes encoding the enzymes of ascorbate-glutathione cycle in rice plants under oxygen deficiency and subsequent oxidative stress

Приказюк Е.Г., Емельянов В.В., Чиркова Т.В.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; prikaziuk@mail.ru

Окислительный стресс – ответ растения на любое неблагоприятное воздействие. Считается, что при этом должны активироваться все компоненты антиоксидантной защиты, но это подтверждается не всегда. Центральное звено антиоксидантной системы растений – аскорбат-глутатионовый цикл, нейтрализующий перекись водорода. В нем участвуют ферменты четырех семейств: аскорбат-пероксидазы (КФ 1.11.1.7), монодегидроаскорбат-редуктазы (КФ 1.6.5.4), дегидроаскорбат-редуктазы (КФ 1.8.5.1) и глутатион-редуктазы (КФ 1.6.4.2). Целью данной работы было проанализировать изменение экспрессии генов, кодирующих эти ферменты в растениях риса при аноксии и пост-аноксическом окислительном стрессе.

Работу проводили на побегах и корнях десятидневных проростков риса (*Oryza sativa* L.). В зависимости от времени, которое растение проводило в условиях недостатка кислорода – 12, 24 или 72 ч, – выделяли три группы. Бескислородные условия создавали в герметично закрытых эксикаторах, вымещая воздух азотом. Окислительный стресс возникал при возвращении растений в воздушную среду (реаэрация) на 1 и 24 ч. Экспрессия генов была измерена методом RT-PCR в четырех биологических повторностях (в каждой по три аналитические повторности). Значения, выходившие за границы доверительного интервала ($\alpha < 0{,}05$), не учитывали при расчетах. Уровень экспрессии рассчитывали относительно гена, кодирующего бета-тубулин-2 (*OsbTub2*), по методу $2^{-(\quad CT)}$.

Анализ базы данных по геному риса показал, что известно 8 генов, кодирующих аскорбат-пероксидазы, *OsAPx*; 5 генов, кодирующих монодегидроаскорбат-редуктазы *OsMDAR*; 3 гена, кодирующих дегидроаскорбат-редуктазы *OsDHAR* и 3 гена, кодирующих глутатион-редуктазы *OsGR*. Кроме этого, известны еще 3 гена, продукты которых имеют аскорбат-пероксидазную активность, они также были включены в исследование. Все гены ядерные, продукты генов локализованы в разных компартментах клетки: цитоплазме, митохондриях, хлоропластах и пероксисомах.

Мы показали, что суммарная экспрессия генов семейства *OsAPx* и подобных им изменялась сходным образом: при действии аноксии она несколько снижалась, а при реаэрации возрастала, особенно после 12-24 ч аноксии. Среди аскорбат-пероксидаз побега при реаэрации увеличивался вклад пероксисомных изоформ *OsAPx*. В корнях же наиболее активно транскрибировались митохондриальная и пластидная изоформы, причем вклад митохондриальной в общую экспрессию возрастал с увеличением сроков реаэрации. Среди генов семейств *OsDHAR* и *OsMDAR* изменения экспрессии были сходными с *OsAPx*, хотя и наблюдалась органоспецифичность изоформ. Для глутатион-редуктаз в корнях наблюдалось заметное подавление экспрессии, а в побегах экспрессия поддерживалась, что касается состава изоформ – в корнях преобладала изоформа с цитоплазматической локализацией (*OsGR2*), а в побегах с пластидно-митохондриальной (*OsGR3*).

Таким образом, работа аскорбат-глутатионового цикла при окислительном стрессе регулировалась экспрессией генов, кодирующих преимущественно ключевые ферменты цикла (аскорбат-пероксидазы и глутатион-редуктазы соответственно). Наблюдалась органоспецифичность экспрессии различных изоформ и увеличение вклада в экспрессию преобладающей изоформой при стресс-ответе. Наше исследование поможет выявить адаптации риса к гипоксии на уровне регуляции экспрессии генов, кодирующих ферменты аскорбат-глутатионового цикла, и может быть использовано для улучшения устойчивости существующих сортов злаковых растений.

Исследования поддержаны грантами РФФИ 12-04-01029 и 15-04-03090.

СВЯЗЫВАНИЕ АММОНИЯ ВЫСШИМИ ВОДНЫМИ РАСТЕНИЯМИ В ГИДРОЭКОСИСТЕМАХ С РАЗНЫМ УРОВНЕМ ФОСФАТОВ

Binding of ammonium by higher aquatic plants in hydroecosystems with different phosphate levels

Прокопчук Е.И.[1], Суходольская И.Л.[2]

[1] *Тернопольский национальный педагогический университет им. В. Гнатюка, Тернополь, Украина* olenka13pro@mail.ru

[2] *Ровенский государственный гуманитарный университет, Ровно, Украина;* irchukmail@gmail.com

Высшие водные растения обладают избирательной способностью поглощать биогенные элементы, а также являются одними из самых эффективных потребителей минеральных соединений, в частности, различных форм азота и фосфора, от количества и форм соединений которых зависит общая продуктивность водных экосистем. Эффективность поглощения растениями азота и фосфора взаимосвязана: при плохой обеспеченности растений азотом сокращается поглощение фосфора и наоборот (Гуляев, 2004). Часто, действие соединений фосфора на растения во многих отношениях противоположно действию соединений азота. Известно, что включение азота в клеточные органические соединения растений осуществляется главным образом путем ферментного связывания аммиака, среди которых наиболее эффективными являются глутаматдегидрогеназный (NAD- и NADP- ГДГ) и глутаминсинтетазный пути (ГС) (Кретович, 1987).

Целью исследований было установление активности глутаматдегидрогеназ и глутаминсинтетазы у высших водных растений, произрастающих в условиях природных концентрацией аммония в водоемах (малые реки) с разным уровнем фосфатов.

Объектами исследований служили 7 видов высших водных растений – представителей тех групп макрофитов, которые на протяжении всей вегетации имеют наибольший контакт с водной толщей (*Potamogeton pectinatus* L., *Potamogeton perfoliatus* L., *Typha angustifolia* L., *Typha angustifolia* L., *Sagittaria saggitifolia* L., *Ceratophyllum demersum* L.). Растения собирали в пик их вегетации в водоемах, которые отличаются разным уровнем антропогенной нагрузки: аграрная (АТ), рекреационная (РТ), урбанизированная (УТ) и техногенно-трансформированная (ТТ) территории, расположенные в разных районах Ровенской области (Украина). Определение активности аммонийсвязующих ферментов ВВР, содержание аммонийного азота и фосфора осуществляли согласно общепринятым методикам (Гавриленко, 1975; Евстигнеева, 1980, МВВ081/12-0005-01 от 16.11.2001г.).

У исследованных растений выявлена высокая глутаматдегидрогеназная активность. В июне, когда в исследуемых водоемах зафиксировано высокие концентрации аммонийного азота, наблюдали незначительное увеличение активации NADP-ГДГ на всех территориях, кроме УТ, что, видимо, является следствием сильной антропогенной нагрузки на водоем. Активность NAD-ГДГ характеризуется высокими показателями в зависимости от физиологических особенностей отдельных видов ВВР: в сентябре, когда наблюдалось резкое снижение концентрации аммонийного азота, увеличилась активность как NAD-, так и NADP-ГДГ. При низких, лимитирующих рост, концентрациях ГДГ связывание аммония осуществляется ГС (Кретович, 1987). Для исследованной растительности установлено, что максимальная активность ГС в сентябре наблюдается при минимальной концентрации аммония в воде, который обеспечивает нормальный рост и развитие растений на всех исследуемых территориях, а летний минимум активности ГС соотносится с высоким содержанием аммония в воде исследованных рек.

Активность NAD - ГДГ и NADP - ГДГ у исследованных растений характеризуются территориальной (уровень антропогенной нагрузки) специфичностью по отношению к концентрации фосфора в среде. Так, в реках УТ с наивысшей концентрацией фосфора в июне наблюдаем снижение NAD - ГДГ, а в сентябре с его понижением – повышение активности фермента. Для рек других территорий с незначительным колебанием концентрации фосфора выявлено снижение активности NAD - ГДГ летом и повышение осенью, что связано с разным видовым составом ВВР и степенью загрязнения территории. Между активностью NADP - ГДГ и концентрацией фосфатов не выявлено четкой зависимости, но прослеживается увеличение активности данного фермента летом, особенно для РТ и УТ, и снижение осенью. В воде рек на всех исследуемых территориях при относительно высоких концентрациях фосфатов в июне (от 0,09 мг/дм³ – ТТ до 2,0 мг/дм³ - УТ) активность глутаминсинтетазы снижается, а при низких в сентябре (0,1 – 0,11 мг/дм³) – повышается.

Таким образом, активность ферментов связывания аммония исследуемой высшей водной растительности непосредственно зависит от содержания в воде азота и фосфора: связывание аммония активизируется при высокой концентрации в воде фосфатов и наоборот.

ИЗМЕНЕНИЯ В ГОРМОНАЛЬНОЙ И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЕ *PRUNUS CERASUS* L. В УСЛОВИЯХ ГИПЕРТЕРМИИ

Changes in hormonal and antioxidant system in *Prunus cerasus* L. under hyperthermia

Прудников П.С.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур, Орел, Россия; prudnicov@inbox.ru

В связи с изменением климата и загрязнением окружающей среды условия для возделывания многолетних высокопродуктивных сортов становятся все менее благоприятными, что в конечном итоге приводит к снижению урожая и даже гибели насаждений. В связи с этим вопросы повышения устойчивости культурных растений в ходе направленной селекции приобретают все большее значение. Однако без изучения физиолого-биохимических процессов и механизмов, происходящих в растениях при адаптации к стрессу, вести современную селекцию на устойчивость к неблагоприятным факторам среды затруднительно. Перспективным направлением является поиск наиболее характерных физиолого-биохимических реакций растений, отражающих степень его толерантности, в ответ на искусственно моделированное стрессовое воздействие: засуха, гипоксия, гипо- и гипертермия и т.д.

Известно, что наиболее чувствительными к воздействию разных стрессовых факторов являются процессы развития перекисного окисления липидов (ПОЛ), изменение уровня фитогормонов и активности антиоксидантных ферментов. В связи с этим цель исследований заключалась в изучении действия высокой температуры на гормональную и антиоксидантную систему защиты, а также на процесс перекисного окисления липидов *Prunus cerasus* L.

Варианты опыта включали: 1. Контроль – изолированные листья растений *Prunus cerasus* L. с. Ровесница и с. Орлица (селекции ФГБНУ ВНИИСПК) в емкости с водой при нормальных условиях; 2. Гипертермия – листья растений в емкости с водой в условиях действия высокой температуры 50°С. Время экспозиции 2 ч.

О работе антиоксидантной системы судили по количеству накопления в листьях пролина (определение проводилось с помощью нингидринового реактива) и активности супероксиддисмутазы (СОД) на основе реакции с нитросиним тетразолием. Содержание фитогормонов ИУК и АБК в листьях, определяли методом биологической пробы. Анализ продуктов перекисного окисления липидов: малонового диальдегида оценивали по реакции взаимодействия с тиобарбитуровой кислотой, гидроперекисей липидов (ГП) с помощью тиоцианата аммония.

В результате определения интенсивности ПОЛ в листьях растений вишни установлено, что большее (на 67% против контроля) накопление количества малонового диальдегида характерно для восприимчивого к действию стресс-фактора сорта Орлица. В то же время у устойчивого сорта Ровесница количество МДА под действием гипертермии также увеличивалось, но с меньшей интенсивностью (на 26% выше контроля). В зависимости от степени устойчивости отмечалась и разная степень накопления гидроперекисей, которые образуются в результате работы липоксигеназы, фермента разрушающего липиды клеточных мембран. У Ровесницы под влиянием гипертермии наблюдалось меньшее повышение уровня ГП по сравнению с Орлицей. Таким образом, у сорта Орлица происходит большее окисление мембранных липидов, что нарушает структурно-функциональную целостность клеток.

Определение содержания фитогормонов в тканях листа показало, что под воздействием высокой температуры у Ровесницы на фоне большего накопления АБК – гормона стресса, наблюдается более интенсивное снижение уровня ИУК – гормона роста. Под воздействием гипертермии у сорта вишни Ровесница содержание АБК увеличилось в 2,7 раза, по сравнению с Орлицей, где количество абсцизовой кислоты возросло в 1,5 раза. В листьях Ровесницы под влиянием высокой температуры отмечено более резкое (в 1,6 раз против контроля) снижение ИУК, тогда как у Орлицы количество ауксина уменьшилось в 1,2 раза. По-видимому, увеличение уровня АБК и уменьшение ИУК необходимо для инактивации некоторых физиологических процессов, при которых растение прекращает трату энергии на рост и перенаправляет ее на активацию защитных систем. В исследованиях (Guan, Scandalios., 1998) показано, что АБК способна инициировать экспрессию нескольких групп генов раннего ответа растения на действие стрессоров, в том числе, генов антиоксидантных ферментов. В наших исследованиях на фоне модифицированного гипертермией уровня ИУК и АБК, показано, что у устойчивого сорта Ровесница, по сравнению с Орлицей под действием стресса наблюдается более интенсивное повышение активности СОД и увеличение накопления осмолитических веществ на примере – аминокислоты пролин.

Таким образом, более интенсивное изменение в содержании и соотношении ИУК и АБК, в устойчивом сорте Ровесница, как видно, способствует большему накоплению и активизации как высокомолекулярных, так и низкомолекулярных антиоксидантов (СОД, пролин). В свою очередь повышение активности СОД и увеличение уровня пролина ингибирует развитие перекисного окисления липидов, продуктами которого являются гидроперекиси и малоновый диальдегид.

ВЛИЯНИЕ ТРОФИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ И ПРЕДАДАПТАЦИИ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ *CHLAMYDOMONAS REINHARDTII*

Effect of trophic conditions and preadaptation on gene expression in *Chlamydomonas reinhardtii*

Пузанский Р.К., Шишова М.Ф.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; puzansky@yandex.ru

C. reinhardtii - широко распространенная зеленая водоросль, играющая важную роль в экосистемах пресных водоемов. Она является модельным организмом в биологических и биотехнологических исследованиях. *C. reinhardtii,* как и многие микроводоросли, способна как к фотоавтотрофии, так и к миксотрофии. Цель нашей работы состояла в анализе динамики экспрессии 32 генов, кодирующих ферменты ассимиляции ацетата, энергетического и пластического обмена и пластидные транспортеры, в зависимости от трофических условий развития культур. Проведено сравнение относительной экспрессии генов в культурах постоянно растущих при миксотрофных (свет + ацетат) и автотрофных условиях, а также в культурах, предадаптированных к миксотрофии, но растущих при автотрофных условиях и культурах предадаптированных к автотрофии, но растущих при миксотрофных условиях. Пробы отбирали в 4х временных точках: первая проба соответствует началу экспоненциальной фазы, вторая – середине, третья - переходу в стационарную фазу, четвертая – продолжению стационарной фазы развития.

Экспрессию генов измеряли методом ПЦР в реальном времени. В качестве референсного гена использовали ген *CBLP*. В первой части эксперимента была проанализирована динамика экспрессии генов в процессе развития миксотрофной культуры. Методом главных компонент было показано различие профилей экспрессии исследованных генов у клеток, отобранных на разных стадиях развития культуры, причем расстояния между профилями становятся меньше по мере приближения к стационарной фазе. Таким образом, профиль экспрессии исследованных генов зависит от возраста культуры и его динамика стабилизируется в процессе роста. Классификация методами с обучением, такими как метод проекций на латентные структуры и случайный лес, позволила выявить гены, экспрессия которых в наибольшей степени связана со временем. К их числу относятся гены, кодирующих ферменты путей ассимиляции ацетата с образованием ацетил-КоА: *ACS1,2* и *ACK1*. Их экспрессия выше в период активного роста культуры. Экспрессия генов *CHLREDRAFT_122970* и *CHLREDRAFT_123419*, кодирующих ферменты осуществляющие вход ацетил-Ко-А в синтез жирных кислот, также выше в период активного роста культуры. Экспрессия гена *CIS2*, кодирующего фермент цитратсинтазу, осуществляющего вход ацетильной группы в цикл Кребса падала в процессе роста культуры. Резко снижалась после завершения экспоненциального роста экспрессия гена *PCK1,* кодирующего фермент фосфоенолпируват карбоксилазу, осуществляющего выход углерода из цикла Кребса в глюконеогенез. Анализ показал, что экспрессия ряда генов цикла Кальвина и ПФЦ (*FBA3, TRK1, TAL2*), а также гликолиза и глюконеогенеза (*HXK1* и *TPIC*) выше в период экспоненциального роста культуры. Экспрессия генов, кодирующих ферменты метаболизма крахмала, также меняется в процессе роста культуры: так экспрессия гена *SBE3*, кодирующего фермент, синтезирующий крахмал, немного возрастает в процессе роста, а экспрессия генов ферментов его деградации, таких как, *CHLREDRAFT_195672* и *STA11* резко падает при завершении фазы роста. Некоторые пластидные углеводные транспортеры также обладают высокой связью с возрастом культуры. Экспрессия *HXT1* постепенно нарастает с возрастом, экспрессия *LCI20* немного снижается, начиная с середины экспоненциальной фазы, экспрессия гена *APE2* намного сильнее в фазе роста, чем в стационарной.

Показано, что трофический режим культивирования хламидомонады оказывал существенное действие, как на динамику, так и на интенсивность экспрессии. В экспоненциальной фазе развития достоверные различия ($p<0,05$) продемонстрировали 21 ген из 32. Так, экспрессия генов, кодирующих пластидные транспортеры *PPT1, HXT1* и *TPT1*, генов цикла Кребса *CIS2* и *ACLA1*, гена кодирующего синтез крахмала *SBE3* выше в атотрофных культурах. В миксотрофных культурах сильнее экспрессия генов, кодирующих ферменты ассимиляции ацетата, генов входа ацетильных групп в синтез жирных кислот *CHLREDRAFT_123419* и *BCC1*, генов деградации крахмала *CHLREDRAFT_137300*, пластидных транспортеров *OMT1, MEX1, APE2*, гена *PCK1*, кодирующего фосфоенолпируват карбоксилазу, генов, кодирующих ферменты путей метаболизма углеводов *TRK1, TAL2, FBA3, HXK1* и *TPIC*. В стационарной фазе картина изменяется, 22 гена демонстрируют достоверные различия, но при этом подавляющее большинство генов экспрессируется более интенсивно в автотрофных культурах, что является результатом более мощного подавления экспрессии при переходе к стационарной фазе в миксотрофных культурах.

В завершении работы было установлено, что профили экспрессии зависят не только от текущих трофических условий, но и предадаптации к ним и этот эффект также зависит от фазы развития культуры.

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ (гранты №№ 14-04-32320 и 13-04-00945).

ИЗМЕНЕНИЯ В МЕМБРАННЫХ ПРОЦЕССАХ И РОСТЕ, ИНДУЦИРОВАННЫЕ ДЕСТРУКЦИЕЙ ТУБУЛИНОВОГО ЦИТОСКЕЛЕТА У *SOLANUM TUBEROSUM*

The changes in membrane processes and growth induced by the destruction of the tubulin cytoskeleton in *Solanum tuberosum*

Пузина Т.И., Власова Н.С., Макеева И.Ю.

Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего профессионального образования «Орловский государственный университет», Орел, Россия; tipuzina@gmail.com

Изучение физиолого-биохимической роли элементов цитоскелета остается важным направлением современной физиологии растений. Известно, что цитоскелет через белки, ассоциированные с ним, образует с мембранами цитоскелет-мембранный комплекс. Применение деструктурирующих цитоскелетных агентов нарушает эту взаимосвязь, и, как следствие, это должно сказаться на процессах, происходящих на мембранах. Такой фармакологический подход позволяет выявить участие цитоскелета в их регуляции. Однако экспериментальных данных, подтверждающих это, крайне мало. В настоящей работе для выяснения возможности зависимости мембранных процессов от целостности элементов цитоскелета проводили деструкцию микротрубочек 1 мМ раствором колхицина («Fluka», Швейцария), который связывается с гетеродимером тубулина, что предотвращает его полимеризацию и вызывает быструю разборку микротрубочек. Объектом исследования были растения картофеля сорта Удача, выращенные в почвенной культуре в условиях вегетационного домика. Определение фотохимической активности изолированных хлоропластов по скорости восстановления феррицианида калия выявило торможение реакции в присутствии колхицина на 40% против контроля. Это сопровождалось повышением содержания неорганического фосфата в листьях (в 1,5 раза), что может указывать на ослабление процесса фотофосфорилирования в нециклическом потоке электронов. Наряду с первичными реакциями фотосинтеза состояние целостности микротрубочек сказалось на транспорте воды через водные каналы мембран – аквапорины. Ингибиторным методом с применением 100 мкМ раствора хлорида ртути – блокатора белков водных каналов мембран, было установлено, что деструкция тубулинового цитоскелета почти в два раза уменьшила поток воды через аквапорины. Антимикротрубочковый агент колхицин специфически изменял реакцию перекисного окисления липидов, во многом определяющую степень повреждения мембран. Отмечено повышение содержания гидроперекисей жирных кислот (более чем на 20%) – первичных продуктов перекисного окисления липидов, однако количество конечного продукта – малонового диальдегида под влиянием колхицина не изменялось. Разборка микротрубочек не повлияла на закладку узлов побега, но уменьшила толщину феллемы (пробки) клубней и вызвала появление в ней бугорчатых утолщений - свэллингов. Одновременно изменилась полярность роста клеток перимедуллярной зоны клубня с анизотропной на изодиаметрическую. Таким образом, индуцированные колхицином изменения в фотохимической активности хлоропластов, транспорте воды через аквапорины, в реакции ПОЛ и ростовых показателях, свидетельствуют об участии тубулинового цитоскелета в их регуляции. Результаты исследования обсуждаются с ранее полученными данными по содержанию фитогормонов в условиях действия антимикротрубочкового агента колхицина.

Работа частично поддержана госзаданием Министерства образования и науки РФ, проект № 1373.

ВЛИЯНИЕ ИОНОВ АММОНИЯ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ ПРОРОСТКОВ ГРЕЧИХИ В УСЛОВИЯХ ЭДАФИЧЕСКОГО СТРЕССА, ОБУСЛОВЛЕННОГО АЛЮМИНИЕВОЙ ТОКСИЧНОСТЬЮ

Ammonium ions influence the growth and development of the germ buckwheat under edaphic stress caused by aluminum toxicity

Пухальская Н.В., Григорьева Ю.В.

Отдел научных проектов ООО «Агропарк», Москва, Россия; n-v-pooh@ya.ru

Исследование влияния ионов алюминия на прорастание семян гречихи сорта Молва (семена Выгоничского района Брянской области), поводилось в условии гидропоники, включало в себя исследование влияния на прорастание и активность роста в первые недели. Исследование показало угнетение прорастания семян при содержании алюминия в концентрациях 2, 6 и 10 мг/л. Повышение содержания алюминия в растворе до 10 мг/л оказывало наименьший отрицательный эффект. Предполагается, что компенсаторный эффект начинало оказывать подкисление раствора, способное активировать стартовые ростовые процессы.

Добавление 20 мг/л сульфата аммония стимулировало рост проростков в присутствии ионов алюминия. Повышенные дозы (40 мг/л) усиливали угнетение прорастания. По сравнению с контрольными растениями площадь поверхности листьев на растворах, содержащих ионы алюминия, была выше на 3% (2 мг/л), 9% (6 мг/л) и 13% (10 мг/л). Также под влиянием ионов алюминия в растворе увеличивалась и длина колеоптиле.

Изучение влияния на рост и развитие проростков растворов, содержащих сочетание ионов алюминия и солей сульфата аммония, показало, что первоначальное ингибирование роста высокой дозой сульфата аммония в первые же дни активной фотосинтетический деятельности проростков переросло в стимулирование ростовых процессов. На всех растворах алюминия (2, 6 и 10 мг/л) стимуляция роста (определяли длину и площадь поверхности листьев ростков) соответствовала дозам сульфата аммония и была существенно выше при добавлении 40 мг сульфата по сравнению с 20 мг и раствором, содержащим только ионы алюминия во всех вариантах (2, 6 и 10 мг/л). В итоге на 12 день сырой вес растений в контрольном варианте оказался ниже, чем в вариантах с одновременным присутствием соли аммония и ионов алюминия.

Однако, сравнение сухой массы растений показало, что проростки на всех вариантах, в которых был добавлен сульфат аммония имели наименьшею массу. Так, в варианте с добавлением в раствор 2 мг Al/l потеря сухой массы по сравнению с контролем (вода) составила 6%. В растворе, содержащем только ионы алюминия, наблюдалось снижение на 31% от добавления в раствор солей аммония в дозе 20 мг/л и 40%. В растворе с концентрацией Al 6мг/л потеря сухой массы по отношению к контролю составила 25%, добавление соли аммония изменило сухую массу несущественно, потери массы сохранялись. Раствор 10 мг Al/л привел к снижению массу на 30%, а добавление к нему ионов аммония привели к потерям в массе до 62%.

Таким образом, на проростках гречихи сорта Молва показано угнетающее действие на накопление сухого вещества растениями при увеличении концентрации алюминия в растворе, и усугубление этого процесса при добавлении солей аммония. Анализ массы корней проростков показал, что с увеличением алюминиевой токсичности в растворе повышается масса корневой системы, что могло зависеть от изменения pH раствора и усиленного развития площади ассимиляционной поверхности в вариантах с повышенным содержанием ионов алюминия в растворе. Анализ адаптации растений гречихи к алюминиевой токсичности является более информативным при изучении эффектов от совместного применения макроэлементов, таких как калий, азот и фосфор. В настоящее время не описаны механизмы совместного воздействия этих ионов на растения. Нашими исследованиями установлено, что гречиха, как вид растений, традиционно считающийся толерантным к произрастанию на кислых почвах, содержащих ионы алюминия, оказывается высокочувствительной к сочетания ионов алюминия и минеральных удобрений, содержащих ионы аммония. Показано, что ионы аммония изменяют чувствительность проростков гречихи к ионам алюминия, меняя водный режим растений, активность прорастания и ростовую активность.

ОСОБЕННОСТИ ВЫРАЩИВАНИЯ *SPMS-1* И *ACL5 SPMS-1* МУТАНТОВ *ARABIDOPSIS THALIANA*

Features of the cultivation of *spms-1 and acl5 spms-1 Arabidopsis thaliana* mutants

Ракитин В.Ю., Власов П.В., Прудникова О.Н., Ракитина Т.Я.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; rakit@ippras.ru

Для получения растений, дефицитных по синтезу полиаминов, пригодных для изучения реакций на УФ-В радиацию следует избегать дополнительных предварительных стрессов. При выращивании на агаризованной минеральной среде в асептических условиях в чашках Петри в качестве стрессоров могут выступать температурный режим, интенсивность и спектральный состав света, концентрация двуокиси углерода, необходимая для фотосинтеза.

Проблемы с температурным режимом были решены за счет термостатирования воздуха в камере выращивания и применение охлаждаемых вентилятором двойных светофильтров (из 4 мм стекла), поглощающих инфракрасное излучение люминисцентных ламп ЛБ-80. Установлена оптимальная температура 25°С днем и 23°С ночью.

Было обнаружено, что по мере развития растений и возрастания ассимиляции окиси углерода, ее содержание в атмосфере чашек Петри в световой период становилось все меньше. Так при интенсивности света 15000 люкс и плотности посадки растений *A. thaliana* 1см^2 /растение концентрация CO_2 в атмосфере чашек Петри с двухнедельными растениями падала ниже 0,001%,что более, чем в 50 раз меньше обычной концентрации в воздухе. В результате наблюдали признаки стресса: торможение роста, ослабление зеленой окраски листьев (потерю хлорофилла), увеличение образования стрессовых гормонов этилена и АБК, а также полиамина путресцина. Для улучшения диффузии CO_2 в чашки Петри зазор между крышкой и верхним краем чашки был увеличен за счет прокладок до 0,4 мм. Увеличение диффузии CO_2 снимало признаки стресса, но приводило к заражению питательной среды. По этой причине для выращивания растений не подвергнутых стрессу из-за недостатка CO_2 была уменьшена интенсивность света до 6500 люкс и плотность посадки растений до 4 см^2/растение. Также, при помощи вентиляторов была установлена циркуляция воздуха вдоль поверхности чашек Петри со скоростью 2 см/сек. При указанных условиях концентрация CO_2 в атмосфере чашек была практически такая же, как в воздухе. Растения не подвергались стрессу и к двухнедельному возрасту масса каждого растения была в 2 раза больше, чем при высокой интенсивности света 15000 люкс и плотности посадки 1 см^2/растение.

НАСЛЕДОВАНИЕ ТРАНСГЕНА У РАСТЕНИЙ *BRASSICA NAPUS* L., ПОЛУЧЕННЫХ ПРИ АГРОБАКТЕРИАЛЬНОЙ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ

Inheritance of transgenes in *Brassica napus* L. plants obtained by agrobacterium-mediated genetic transformation

Ралдугина Г.Н.[1], Хоанг Т.Ж.[1,2], Буй Н.Х.[3], Шумкова Г.Н.[1]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия; galina_ifr@fromru.com*

[2] *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия*

[3] *Российский университет дружбы народов, Москва, Россия*

Встроенные гены, как правило, наследуются в потомстве самоопыленных трансгенных растений как единый менделевский признак, сегрегируя 3:1. Однако в некоторых случаях наблюдается неменделевское наследование трансгена**.** Одной из причин такого явления может быть образование химер, то есть организмов, состоящих из генетически неоднородных клеток, с формированием генеративных органов из трансгенных и нетрансформированных клеток. Выбор способа ухода от этого явления позволил бы получить большее количество трансгенных растений. С этой целью изучали наследование генов *gfp* и *nptII*, находящихся в одной конструкции, у растений-трансформантов рапса, полученных на различных эксплантах двух сортов ярового рапса. Методом ПЦР было показано, что только в части растений из семядольных эксплантов, содержащих ген *nptII*, присутствовал одновременно ген *gfp* (40% сорта Westar и 45% сорта Подмосковный). При этом только около 70% таких растений светились в ультрафиолете, показывая экспрессию гена *gfp*. Трансгенные растения 2 раза последовательно черенковали *in vitro*, а затем укорененные черенки высаживали в почву для получения семян. Оценка результатов расщепления показала, что хотя у некоторых линий Westar от первого черенкования соблюдались менделевские правила наследования одного признака для самоопыленных растений, у тех же линий растений от второго черенкования наблюдали неменделевскую сегрегацию. Только одна линия растений показала менделевское расщепление при втором черенковании, подтверждая нехимерность трансгенного растения. У трансформированных растений Подмосковного наблюдали только неменделевскую сегрегацию. У трансгенных растений, сформировавшихся на листовых эксплантах, ген *gfp* в растениях первого поколения обоих сортов не был обнаружен. Изучение наследования гена у Т2 поколения растений показало, что у большинства полученных регенерантов наблюдается распределение гена *gfp,* свойственное одному признаку. В следующих поколениях число трансгенных растений возрастает и имеется вероятность в дальнейшем получения гомозиготных растений.

ВНУТРИВИДОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ В МЕХАНИЗМАХ СОЛЕУСТОЙЧИВОСТИ У КСЕРОГАЛОФИТА *BASSIA SEDOIDES* С ПРОМЕЖУТОЧНЫМ С3-С4 ТИПОМ ФОТОСИНТЕЗА

Intraspecific differences in the mechanisms of drought resistance of xero-halophyte *Bassia sedoides* with intermediate C3-C4 type of photosynthesis

Рахманкулова З.Ф., Шуйская Е.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; zulfirar@mail.ru

Исследованы морфофизиологические и биохимические особенности двух генотипов *Bassia sedoides* (Chenopodiaceae), отличающихся по продуктивности в естественных условиях. Из семян двух генотипов вырастили проростки в условиях слабого и умеренного засоления (100 и 200 мМ NaCl, соответственно) и аналогичного по осмотическому потенциалу водного дефицита, генерированного ПЭГ. Исследовали морфофизиологические и биохимические параметры: длину, сырую биомассу надземной части растений, число боковых побегов, содержание пролина, ионов Na^+ и соотношение Na^+/K^+ в побегах, а также интенсивность световых и темновых реакций фотосинтеза и транспирации.

Оба генотипа были одинаково неустойчивы к осмотическому стрессу и продемонстрировали сходное существенное снижение роста (r=0,9), содержания воды (r=0,9), интенсивности фотосинтеза (r=0,78), транспирации (r=0,9) и эффективности использования воды (r=0,7). Выявлены различия между генотипами по ряду параметров CO_2/H_2O в условиях засоления, а именно, противоположные тенденции изменения фотосинтеза и транспирации (r=-0,8 и r=-0,9, соответственно). У менее продуктивного генотипа возрастание интенсивности фотосинтеза при усилении засоления не приводило к росту биомассы, но сопровождалось значительным возрастанием интенсивности темнового дыхания (почти в 4 раза). Установлено, что у данных растений дополнительные дыхательные затраты связаны с диссипацией энергии и коррелируют со снижением содержания воды в побегах. У более продуктивного и солеустойчивого генотипа дополнительные дыхательные затраты менее выражены и связаны с эффективностью использования воды.

При адаптации к засолению важное значение имеет регуляция водного обмена и сохранение клеточного Na^+/K^+ гомеостаза. Поэтому данное соотношение и степень его изменения часто используют в качестве одного из критериев солеустойчивости растений при засолении. Выявлены генотипические различия по данному параметру, достоверно большее значение отношения Na^+/K^+ было у растений менее продуктивного генотипа, что свидетельствует об их слабой солеустойчивости. У более продуктивного и солеустойчивого генотипа выявлены механизмы, позволяющие ограничивать накопление ионов Na^+, а также накапливать в тканях побегов K^+ в значительных количествах, что очень важно для поддержания высокого уровня содержания воды и оптимального ионного гомеостаза в растениях.

Полученные данные свидетельствуют, что растения *Bassia sedoides* обладают разными генетически закрепленными адаптационными механизмами галотолерантности на уровне физиологических процессов, в том числе связанных с CO_2/H_2O обменом.

ВЛИЯНИЕ НИТРОПРУССИДА НАТРИЯ НА МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ И АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ ПУТИ ДЫХАНИЯ У ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ *TRITICUM AESTIVUM* L. В ПРИСУТСТВИИ ЦИНКА

Sodium nitroprusside influence on morphophysiological parameters and alternative respiration of wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.) under excess Zn

Рахматуллина С.Р.[1], Рахманкулова З.Ф.[2], Усманов И.Ю.[1]

[1] *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Башкирский государственный университет», Уфа, Россия r.sveta@inbox.ru; iskander.usmanov@mail.ru*

[2] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия; zulfirar@mail.ru*

В условиях повышенного антропогенного загрязнения возникает проблема устойчивости высших растений, которая является на сегодняшний день одной из самых приоритетных в современной биологии. Особый интерес среди абиотических факторов представляют тяжелые металлы (ТМ), приводящие к нарушениям физиолого-биохимических процессов и показателей в клетках. К такому типу металлов принадлежит цинк (Zn), являющийся природным токсикантом и стресс-фактором.

Целью данной работы было изучение влияния экзогенного нитропруссида натрия (SNP) на ростовые показатели (сухая масса, относительная скорость роста); физиологические показатели (фотосинтез, суммарное темновое дыхание, альтернативные пути дыхания) побегов и корней 14-дневных растений пшеницы *Triticum aestivum* L. сорта Казахстанская 10, выращенных в норме и в присутствии цинка. Сухую массу побега и корня определяли после высушивания частей растений до воздушно сухого состояния при 90°С в течение 24 ч. На основе морфологических параметров рассчитывали относительную скорость роста RGR (relative growth rate – относительная скорость роста), которую определяли как показатель прироста биомассы на единицу существующей: $RGR=W_2 - W_1/W_1= W/W_1 t$; W_1 – вес исходный; W_2 – вес конечный. Установлено, что нитропруссид натрия стимулировал накопление массы как побегов, так и корней растений пшеницы (в 1,12 и 1,23 раза, соответственно), по сравнению с контрольными растениями. У растений, выращенных в присутствии цинка, нитропруссид натрия увеличивал накопление массы как надземной, так и подземной частей растений пшеницы (в 1,24 и 1,23 раза, соответственно). Следует отметить, что нитропруссид натрия стимулировал относительную скорость роста (RGR) в надземной части в 1,37 раза и в большей степени подземной части в 1,62 раза, по сравнению с контрольными растениями. В присутствии цинка нитропруссид натрия увеличивал относительную скорость роста в побегах в 1,24 раза, а в корнях в 1,7 раза. Определение интенсивности суммарного темнового дыхания (R) и его функциональных составляющих проводили методом открытой манометрии на аппарате Варбурга WA 0110 (Германия). Изучение функционирования составляющих темнового дыхания осуществляли с помощью специфических ингибиторов. В присутствии цинка нитропруссид натрия активизировал суммарное темновое дыхание, которое увеличивалось в 1,36 и 1,17 раза в побегах и корнях, соответственно. Гроссфотосинтез (Pg) рассчитывали как сумму затрат на дыхание (R) и прироста биомассы за период времени (W* t). В ходе экспериментов рассчитывали соотношение дыхательных затрат и гроссфотосинтеза (R/Pg). В разных вариантах соотношение R/Pg было различным: в контроле 42,2%; на нитропруссиде натрия 38,9%; в присутствии цинка 46,9%; в присутствии цинка и SNP 47,7%. В ходе ингибиторного анализа было выявлено, что под влиянием нитропруссида натрия доля цитохромного пути дыхания усиливалась в побегах, а доля альтернативного пути дыхания - в корнях (в 1,15 и 1,1 раза, соответственно). Полученные результаты позволяют заключить, что нитропруссид натрия является важным протекторным веществом, которое предотвращает губительное для роста растений токсическое действие цинка и стимулирует относительную скорость роста, а также активизирует более энергетически выгодный цитохромный путь дыхания.

ВЛИЯНИЕ СТРЕСС-ФАКТОРОВ НА СОДЕРЖАНИЕ ТРАНСКРИПТОВ ГЕНОВ ГЛУТАТИОНСИНТЕТАЗЫ И ФИТОХЕЛАТИНСИНТАЗЫ У ПШЕНИЦЫ

Effects of stress factors on genes transcripts of glutathione synthetase and phytochelatin synthases in wheat

Репкина Н.С., Таланова В.В., Батова Ю.В., Фенько А.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия; nrt9@ya.ru

Глутатионсинтетаза и фитохелатинсинтаза – ключевые ферменты синтеза глутатиона и фитохелатинов – участвуют в защитных реакциях растений на действие различных неблагоприятных факторов среды. Цель данной работы заключалась в изучении экспрессии генов, кодирующих глутатионсинтетазу (*GS1* и *GS3*) и фитохелатинсинтазу (*PCS1*), в корнях и листьях пшеницы при действии стресс-факторов разной природы (кадмия и низкой температуры).

Исследования проводили на 7-дневных проростках пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Московская 39, которые в течение недели подвергали действию сульфата кадмия (100 мкМ) и низкой закаливающей температуры (4°С). Содержание кадмия в корнях и листьях проростков определяли методом инверсионной вольтамперометрии. О развитии окислительного стресса судили по накоплению малонового диальдегида (МДА). Для анализа содержания транскриптов генов *GS1*, *GS3* и *PCS1* в корнях и листьях пшеницы использовали метод ПЦР в режиме реального времени.

Показано, что уже через 1 ч от начала действия кадмия на проростки пшеницы происходит его накопление в корневой системе, по мере увеличения продолжительности воздействия содержание кадмия возрастает в течение 7 сут эксперимента. Поступление кадмия в листья обнаружено лишь через 1 сут от начала воздействия, максимальное его значение зафиксировано на 7 сут, однако в этом случае оно было заметно ниже, чем в корнях. Меньшее накопление кадмия в листьях может быть связано с тем, что уже в начальный период его действия в корнях происходит активация механизмов защиты, направленных на предотвращение его поступления в надземную часть растений.

В ходе исследований установлено, что уже в начальный период действия ионов кадмия и низкой температуры происходит возрастание содержания транскриптов гена *GS1* в корнях и листьях проростков пшеницы, причем повышенный уровень мРНК *GS1* сохраняется на протяжении всего эксперимента. Отметим также, что в корнях проростков содержание мРНК гена *GS1* было заметно выше, чем листьях. Динамика содержания транскриптов гена *GS3* имела сходный характер, однако их накопление происходит в большей степени в листьях проростков.

Повышение уровня транскриптов гена *PCS1* в листьях пшеницы отмечено как при действии кадмия, так и низкой закаливающей температуры, хотя во втором случае оно было меньшим по величине.

Низкие температуры и тяжелые металлы могут приводить к развитию окислительного стресса в клетках растений. Одним из показателей устойчивости растений к окислительному стрессу является содержание конечного продукта перекисного окисления липидов – малонового диальдегида. В ходе проведенных нами исследований существенных изменений в содержании МДА по отношению к контролю в корнях проростков под влиянием кадмия и низкой закаливающей температуры не зафиксировано. Некоторое повышение уровня МДА в листьях проростков пшеницы происходило преимущественно при длительном воздействии температуры 4°С и кадмия (3–7 сут). В целом, характер изменения содержания МДА в листьях и корнях пшеницы при действии кадмия и низкой температуры оказался сходным.

Таким образом, совокупность полученных результатов позволяет заключить, что усиление экспрессии генов *GS1*, GS3 и *PCS1*, кодирующих ферменты синтеза глутатиона и фитохелатинов, способствует адаптации растений пшеницы к действию кадмия и низкой температуры.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 14-04-31676 мол_а).

НОВЫЙ ЗАЩИТНЫЙ ХАРПИНО-ПОДОБНЫЙ ПЕПТИД ИЗ СЕМЯН ЕЖОВНИКА (*ECHINOCHLOA CRUSGALLI* L.)

A novel hairpin-like defense peptide from barnyard grass (*Echinochloa crusgalli* L.) seeds

Рогожин Е.А.[1], Смирнов А.Н.[2]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Москва, Россия*

[2] *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Российский государственный аграрный университет - МСХА им. К.А. Тимирязева, Москва, Россия; rea21@list.ru*

Защитные белки и пептиды являются важными компонентами врожденного и индуцированного иммунитета растений к различным биотическим и абиотическим стрессам. Среди них выделяют соединения, которые синтезируются конститутивно, то есть принимают участие в защитном ответе в ответ на действие неблагоприятных факторов. К категории таких защитных молекул относят пептиды, которые обладают антимикробными свойствами по отношению к различным микроорганизмам - возбудителям болезней культурных растений, а также являются ингибиторами гидролитических ферментов насекомых-вредителей. Среди относительно недавно открытого семейства харпино-подобных защитных пептидов (харпининов) растений помимо двух вышеуказанных функций также была описана способность одного из представителей инактивировать рибосому в процессе биосинтеза белка.

В рамках наших исследований для одного из пептидов, названного EcAMP6, принадлежащего к харпининам и выделенного из семян ежовника обыкновенного сочетанием трехстадийной жидкостной хроматографии низкого и высокого давления, была установлена двойная функциональная активность - антимикробная (против фитопатогенных грибов и бактерий) и ингибитора трипсина и трипсино-подобных протеиназ. Ранее для харпино-подобных пептидов семян ежовника, гомологичных EcAMP6, было установлено наличие исключительно антимикробной активности (антифунгальной и/или антибактериальной), при этом они являлись субстратом для трипсина. В рамках данного исследования впервые для полипептидов из данного семейства показана способность одновременно принимать участие в иммунитете растений как к болезням, так и к вредителям.

Полученные результаты расширяют имеющиеся знания о врожденном иммунитете дикорастущих растений к биотическим стрессовым факторам окружающей среды.

Работа выполнена при поддержке Российского Фонда Фундаментальных исследований (грант № 15-04-05097-а), Программы Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология», а также Стипендии Президента Российской Федерации для молодых ученых (регистрационный номер СП-2093.2015.4).

СТРУКТУРНЫЕ, ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГАЛОФИТОВ С РАЗНЫМ ТИПОМ СТРАТЕГИИ НАКОПЛЕНИЯ СОЛЕЙ В УСЛОВИЯХ НИЖНЕГО ПОВОЛЖЬЯ

Structural, functional and biochemical features in halophytes of different types in the Lower Volga Region

Розенцвет О.А[1]., Нестеров В.Н.[1], Богданова Е.С.[1], Захожий И.Г.[2], Табаленкова Г.Н.[2], Кособрюхов А.А.[3]

[1] *ФГБУН Институт экологии Волжского бассейна Российской академии наук, Тольятти, Россия olgarozen55@mail.ru; nesvik1@mail.ru; cornales@mail.ru*

[2] *ФГБУН Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, Сыктывкар, Россия; zakhozhiy@ib.komisc.ru; tabalenkova@ib.komisc.ru*

[3] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки истиут фундаментальных проблем биологии Российской академии наук, Пущино, Россия; kosobr@rambler.ru*

Галофиты – специализированная эколого-физиологическая группа растений с высоким потенциалом биологической устойчивости к засолению. Устойчивость галофитов к засолению обеспечивается разнообразными механизмами, как на уровне отдельных клеток, так и на уровне целого растения. Учитывая неоднородность галофитов по стратегии соленакопления, исследованы структурные, функциональные и биохимические свойства эугалофита *Salicornia perennans*, криногалофита *Limonium gmelinii* и гликогалофита *Artemisia santonica*. Район исследования (Приэльтонье) расположен в Нижнем Поволжье, характеризуется близостью залегания грунтовых вод, засоленностью почвогрунтов, что обуславливает формирование солончаковости и солонцеватости почв и галофитного типа растительности. Температурный режим отличается амплитудой экстремальных температур более 70°С с абсолютным минимумом в январе (-31,1°С) и абсолютным максимум в августе (41,1°С). Растительный материал отбирали в первой половине дня в середине июня 2013-14 гг. в устье р. Б. Смарогда (49°07′с.ш., 46°50′в.д.). Для анализов использовали среднюю часть листьев среднего яруса из 15–20 экземпляров растений одного вида (в случае *S. perennans* – среднюю часть надземного побега).

Внешне изученные виды растений различались размерами и формой листьев: крупные (*L. gmelinii*), мелкие (*A. santonica*), сросшиеся со стеблем (*S. perennans*). Анализ мезоструктуры исследуемых видов растений показал, что размеры фотосинтезирующих клеток эугалофита *S. perennans* значительно крупнее (в 3–5 раз) в сравнении с *L. gmelinii* и *A. santonica*. Для данного вида были также характерны большие значения числа хлоропластов в клетках. В пигментном фонде содержание Chl *a* и *b* в расчете на сух. м. было более низким у эугалофита *S. perennans* по сравнению с *A. santonica* и *L. gmelinii*.

Содержание воды в тканях надземной части *S. perennans* составляло более 90% от сыр. массы, у других видов 75 и 74%, соответственно. Содержание ионов Na, K, и Ca уменьшалось в ряду *S. perennans* > *L. gmelinii* >*A. santonica*. Количество Na в надземной части растений *S. perennans* составляло 140 мг/г сух. массы, что в 3 раза превышало этот показатель у *A. santonica* и *L. gmelinii*. Концентрация азота и углерода снижалась в ряду *S. perennans* < *L. gmelinii* <*A. santonica*.

При относительно одинаковых уровнях интенсивности света и температуры растения эугалофита *S. perennans* имели более высокие значения скорости газообмена в сравнении с крино- и гликогалофитами. В утренние часы растения *S. perennans* и *A. santonica* имели более высокие скорости фотосинтеза по сравнению с дневными показателями. Для оценки реакции ФА растений на свето-температурный режим в естественных местообитаниях использовали отношение вариабельной флуоресценции Chl к ее максимальному значению (параметр F_v/F_m). В ночное время уровень F_o был минимальным и возрастал в дневное время практически в два раза. В то же время уровень F_m в дневное время снижался. Максимальные изменения F_o были отмечены для эугалофита *S. perenans*. Суточные изменения уровня F_m составляли 5–10% для всех галофитов. Изменения F_o и F_m было причиной изменения максимальной фотохимической активности ФС II (Fv/Fm).

В липидном комплексе бóльшее количество суммарных липидов соответствовало гликогалофиту *A. santonica* (55 мг/г сух. массы), что в 2,5-3,5 раза больше чем у *L. gmelinii u S. perennans*, хотя у последних было бóльшее содержание мембранных липидов. Содержание белков также различалось в зависимости от вида растений и стратегии соленакопления. У *A. santonica* оказалось наибольшее количество мембранносвязанных белков (25-46 мг/г сух. массы) в сравнении с *L. gmelini* и *S. perennans* (11–25 мг/г, соответственно). Подобная картина наблюдалась в содержании водорастворимых белков, хотя их количество было выше, чем мембранносвязанных белков.

Содержание МДА в исследованных растениях варьировало от 0,014 до 0,085 мкмоль/г сыр. массы, причем уровень процессов ПОЛ был в 2 и более раз выше у крино- и гликогалофитов. Стабильный и более низкий уровень продуктов ПОЛ у эугалофитов свидетельствует о хорошо организованной программе антиокислительной защиты и их способности сохранять каркасную основу метаболизма.

Результаты исследований показали, что галофиты с разной стратегией накопления солей различались по накоплению биомассы надземной части, функциональным особенностям, эффективности использования углерода, мезоструктуре и структуре биологических мембран, химической композиции листьев.

ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ХВОИ *PINUS SYLVESTRIS* L. В РАЗНЫЕ СЕЗОНЫ ГОДА В УСЛОВИЯХ ИРКУТСКОЙ ОБЛАСТИ

The composition of fatty acid in the needles of *Pinus sylvestris* L. in different seasons of the year in the Irkutsk Region

Романова И.М., Живетьев М.А., Соколова Н.А., Дударева Л.В., Граскова И.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия; nik.19@mail.ru

На долю сосновых лесов приходится 25% от общей площади лесов Иркутской области. Вид *Pinus sylvestris* L. занимает обширный ареал в северном полушарии и является одним из основных лесообразователей умеренного климатического климата. На жизнедеятельность и продуктивность сосны обыкновенной наибольшее влияние оказывают температура и влажность. В условиях Сибири температура является одним из главных экологических факторов. Один из механизмов адаптации к сезонному изменению температуры окружающей среды заключается в регулировании жидкого фазового состояния мембран клеток организма через изменение жирнокислотного состава мембранных липидов.

Цель работы – изучить жирнокислотный состав *Pinus sylvestris* L. в течение всего вегетационного периода в четырех точках, проследить сезонную динамику жирных кислот; сравнить динамику активности десатураз в период исследования.

Ежемесячно в течение года отбиралась хвоя первого, второго и третьего годов, а с июля – молодая, текущего года, хвоя.

Определение жирнокислотного состава проводили методом газожидкостной хроматографии.

Жирнокислотный состав хвои сосны обыкновенной в период исследования включает 32 жирных кислоты, длина углеродных цепей которых варьирует от 12 до 22 атомов. Основными жирными кислотами в период исследования были: пальмитиновая, линолевая и α-линоленовая кислоты. Высокое содержание (более 5%) отмечается для олеиновой, пиноленовой, скиадоновой кислот.

Анализируя сезонную динамику жирных кислот, было выявлено, что для большинства кислот характерна схожая динамика в течение года в пробах.

Содержание пальмитиновой кислоты в среднем составляет 15-16% для каждой точки сбора проб. Содержание линолевой кислоты колеблется в пределах 18-22%, в динамике отмечается более высокое процентное содержание в теплое время года. Содержание α-линоленовой кислоты в среднем находится в количестве 15-20%, максимальное содержание отмечается в период с июля по сентябрь и составляет от 25-30%. Динамика олеиновой кислоты во всех точках сбора одинакова и количество колеблется в пределах 8–12%. Также отмечается более высокое содержание пиноленовой кислоты (5-11%), более высокое процентное содержание кислоты наблюдается в холодное время года.

Для разных точек сбора и возраста хвои выявлен ряд кислот, который не встречается в других пробах. Например, ω9-пальмитолеиновая кислота, пентадекановая кислота, лауриновая кислота и ряд других кислот.

Для лучшего понимания динамики жирнокислотного состава изучено изменение сезонной активности ω-3, ω-6 и ω-9-десатураз, которые осуществляют процесс десатурации жирных кислот в положении 3, 6 и 9 соответственно.

Увеличение активности десатураз приводит к увеличению содержания ненасыщенных жирных кислот, что снижает температуру перехода из фазы геля в жидкокристаллическую фазу. За весь период исследования активность ω-3 и ω-6-десатураз выше, чем активность ω-9-десатуразы во всех точках сбора проб.

Изучен подробный жирнокислотный состав хвои *Pinus sylvestris* L. во всех точках сбора в течение всего периода исследования. Несмотря на различия в условиях произрастания и количественном содержании жирных кислот, динамика изменения жирнокислотного состава сходная. Выявлено, что содержание ряда жирных кислот зависит от времени года. Некоторое смещение во времени проявления сезонных изменений жирнокислотного состава в разных местах произрастания было связано как с их микроклиматическими особенностям, так и с отличиями в ранее изученной активности пероксидазы в данных точках сбора.

Прослежена динамика десатуразной активности в хвое *Pinus sylvestris* L. в течение периода исследования. Показано, что наиболее сильный вклад в изменение жирнокислотного состава хвои сосны обыкновенной вносит ω-3-десатураза в связи с широкой амплитудой ее активности.

ИЗУЧЕНИЕ ДОНОРНО-АКЦЕПТОРНЫХ СВЯЗЕЙ У РАСТЕНИЙ В КУРСЕ «ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ»

Роньжина Е.С.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Калининградский государственный технический университет», Калининград, Россия
ron-box@mail.ru

В Примерную и Учебные (рабочие) программы дисциплины «Физиология и биохимия растений» для студентов сельскохозяйственных направлений бакалавриата, в раздел «Обмен и транспорт веществ в растении», включены вопросы, связанные с проблемой донорно-акцепторных связей у растений: «Роль дыхания в биосинтезах. Биосинтетическая деятельность корня. Ближний и дальний транспорт веществ в растении. Состав флоэмного и ксилемного сока. Донорно-акцепторные отношения, аттрагирующие центры в растении. Способы регулирования транспорта веществ с целью повышения урожайности сельскохозяйственных культур и качества продукции». Изучение этих вопросов должно проводиться с позиций учения о донорно-акцепторных связях у растений, начатого в нашей стране А.Л. Курсановым и доведенного до логического завершения А.Т. Мокроносовым. Однако в основной учебной литературе по физиологии растений, рекомендованной Министерством образования и Министерством сельского хозяйства РФ («Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений» / под ред. Н.Н. Третьякова; Кузнецов В.В., Дмитриева Г.А. «Физиология растений») эти вопросы изложены лишь фрагментарно. Наиболее полно они представлены в учебнике «Фотосинтез. Физиолого-экологические и биохимические аспекты», который был издан А.Т. Мокроносовым в соавторстве с В.Ф. Гавриленко в 1992 г. и переиздан в 2006 г.

При изучении вопросов, связанных с функционированием растения у студентов должно сформироваться четкое представление о том, что метаболизм, транспорт и распределение ассимилятов в растении происходят в единой донорно-акцепторной системе (ДАС). В ее составе выделено несколько основных структурно-функциональных и регуляторных элементов. В первую очередь это органы – доноры (Д.), поставляющие ассимиляты в другие части растения (первичные – взрослые листья и нелистовые фотосинтезирующие части растения, вторичные - запасающие органы при прорастании) и акцепторы (А.) – потребляющие, запасающие части растения и органы с интенсивным метаболизмом. Будучи пространственно разделены, Д. и акцепторы связаны между собой структурно – с помощью флоэмы, функционально – системой информационных сигналов. В онтогенезе между Д. и А. устанавливается взаимосвязь, благодаря которой фотосинтез поддерживается на необходимом растению уровне. Считают, что определяющую роль в функционировании ДАС играют А., посылающие сигнал неизвестной природы в сторону Д. и таким образом регулирующие их метаболизм. Полное или частичное удаление А. приводит к снижению интенсивности и изменению качественной направленности фотосинтеза; при увеличении активности А., например, по мере его роста, фотосинтетическая функция листа и растения повышается. А. обладают аттрагирующей активностью, т.е. способностью ориентировать транспортные потоки ассимилятов в свою сторону. Природа аттрагирующего фактора пока неясна, поэтому он введен в состав ДАС как «аттрагирующий фактор неизвестной природы». В последние годы появились немногочисленные данные о том, что изменение донорной функции листьев влияет на аттрагирующую активность А., а транспорт и распределение ассимилятов в растениях могут контролироваться Д. В настоящее время некоторые авторы предлагают биполярную модель с двумя центрами управления транспортом и распределением ассимилятов в растениях. При этом современные данные о механизме транспортных процессов в наибольшей степени согласуются с представлениями о регуляторных механизмах флоэмного транспорта веществ, основанными на закономерностях, вскрытых Мюнхом (Münch, 1935). Движущей силой транспорта он считал градиент давления в проводящих путях, возникающий в результате формирования градиента осмотического потенциала вдоль флоэмы. Многие данные свидетельствуют также о том, что транспорт ассимилятов контролируется, в основном, на уровне их загрузки в Д. и разгрузки в А., т.е. в начале и в конце транспортного пути. Важно подчеркнуть, что на все элементы ДАС эффективно влияют фитогормоны, которые стимулируют фотосинтез (через регуляцию хлоропластогенеза, структурной и биохимической дифференциации хлоропластов, активность фотосинтетических ферментов, формирование клеток мезофилла, степень открытости устьиц) и отток ассимилятов из Д., а также рост, развитие А., отложение запасных веществ и в целом аттрагирующую активность А. Последний эффект проявляется в корреляции между аттрагирующей активностью А. и уровнем эндогенных фитогормонов; экзогенный фитогормон имитирует «запрос» на ассимиляты удаленного в эксперименте А.; аттрагирующая способность интактного А. стимулируется экзогенным фитогормоном. В итоге после изучения раздела у студентов должно сложиться четкое представление о том, что именно ДАС является наиболее высоким уровнем организации, определяющим функционирование растений как единого целого на всех уровнях – от клеточного и субклеточного до организменного. Важно также, чтобы студенты – аграрии понимали важнейший вклад донорно-акцепторных связей в формирование продуктивности сельскохозяйственных культур.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ИНТРОДУКЦИИ РОДИОЛЫ РОЗОВОЙ (*RHODIOLA ROSEA* L.) В КАЛИНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

Biological fundamentals of an introduction of *Rhodiola rosea* L. in the Kaliningrad region

Роньжина Е.С., Потехина Т.М., Карнюшина Т.Е.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Калининградский государственный технический университет», Калининград, Россия
ron-box@mail.ru

Родиола розовая (*Rhodiola rosea* L.) – ценное лекарственное растение сем. *Crassulaceae*. Основным ареалом вида являются горные районы Южной Сибири: Северный, Центральный и Юго-Восточный Алтай, Западная и Восточная часть Саян, горы Тывы и Забайкалья. Изолированные участки ареала находятся в Северной Америке, горах Скандинавии, Западной Европы (Великобритании и Ирландии, Пиренеях, Альпах), Балканского полуострова, Кавказа, Малой Азии, Средней Азии, Монголии, Китая, Японии, в Карпатах; на территории России - в горах севера европейской части, Сибири, Дальнего Востока, частично – на Урале; также встречаются в Тарбагатае, на Дальнем Востоке и Крайнем Севере – в Магаданском крае, севере Красноярского края, заполярных районах Якутии, а также на побережье Белого и Баренцева морей. Высотные пределы распространения вида в разных географических зонах различны и колеблются от 900 до 2750 м над уровнем моря. Ведущими экологическими факторами, определяющими феноритмотип этого вида, являются суровый и неустойчивый метеорологический режим вегетационного периода, который, однако, обеспечивает требуемый растению умеренно низкие температуры в течение вегетационного периода, оптимально увлажненные местообитания, хорошо дренируемый и переувлажненный холодными проточными или подточными водами субстрат.

Основным регионом культивирования родиолы в промышленных масштабах является Алтайский край. Здесь продуктивность вида колеблется в пределах 0,8-2,0 т/га, масса хозяйственно-ценной части взрослых растений - корневищ - варьирует в зависимости от возраста и условий местообитания от 10 до 80 г/растение. Возможность культивирования родиолы розовой в условиях Калининградской области не изучена, в естественных местообитаниях на территории региона вид не встречается. Поэтому целью настоящей работы явилась разработка биологического обоснования и определение перспективности интродукции родиолы розовой в Калининградскую область.

При выполнении работы на основе результатов полевого вегетационного опыта с учетом имеющихся в литературе сведений изучены биоэкологические особенности вида, его рост и развитие (полный морфометрический анализ, феноритмотипы), некоторые физиолого-биохимические параметры в условиях Калининградского региона в сравнении с естественными ареалами, выявлены структурно-функциональные особенности приспособительного характера, оценена продуктивность у разнообразных экотипов для отбора наиболее приспособленных из них для новой среды обитания.

Итогом работы явились следующие выводы: 1) Для культивирования родиолы розовой необходимо выбирать освещенные солнцем, плодородные, хорошо обработанные и обеспеченные влагой участки. 2) Почвы рекомендуется подщелачивать до достижения оптимальной для родиолы слабощелочной реакции. 3) В условиях мягкой зимы, характерной для региона, семена родиолы, как правило, не проходят естественную стратификацию, искусственная стратификация затруднена малыми размерами семян и их зараженностью грибными инфекциями, а получаемые проростки слабы и имеют невысокую устойчивость к действию неблагоприятных факторов. Это позволяет рекомендовать вегетативное размножение растений делением корневищ. 4) При выращивании в условиях Калининградской области происходит ускоренное прохождение фенофаз растением, что дает возможность более раннего сбора урожая по сравнению с естественными ареалами. На основании полученных результатов заключено, что в целом почвенно-климатические условия Калининградского области позволяют виду реализовать свой биологический потенциал и дают возможность с высокой степенью эффективности культивировать родиолу розовую на территории региона в промышленных масштабах.

ПОВЫШЕНИЕ ЗИМОСТОЙКОСТИ РАСТЕНИЙ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ (*TRITICUM AESTIVUM* L.) С ПОМОЩЬЮ ПРЕПАРАТА МОДДУС

Enhancement of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) winter-hardiness by growth regulator Moddus

Роньжина Е.С., Рейтер А.Е.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Калининградский государственный технический университет», Калининград, Россия
ron-box@mail.ru

Моддус (д.в. тринексапак-этил, $C_{13}H_{16}O_5$) – новый ретардант, рекомендованный фирмой-производителем «Sygenta» для эффективного предотвращения полегания озимой пшеницы и рапса. Ранее мы показали его недостаточную ретардантную активность в почвенно-климатических условиях Калининградской области, особенно для высокорослых и высокопродуктивных сортов. Поэтому целью настоящей работы явилось изучение отличных от ретардантного действия эффектов Моддуса, подтверждающих целесообразность его применения, в первую очередь, - влияния на зимостойкость растений.

Зима в Калининградском регионе существенно отличается от зимы в центральных и северо-западных областях Европейской части России. Устойчивый снежный покров образуется не каждый год. Средняя высота снежного покрова составляет 7-8 см, в холодные зимы достигает 30 см и более. Средняя температура самого холодного месяца – января – колеблется в пределах -3,2 – -3,6°С. Характерны достаточно продолжительные оттепели, иногда весьма интенсивные, что провоцирует возобновление вегетации озимых культур и расход сахаров. Оттепели могут сменяться резким падением температуры воздуха до -15 – -20°С и ниже, что весьма неблагоприятно сказывается на состоянии посевов и в отдельные годы приводит к их гибели. Осадки зимой выпадают в виде снега и дождя. В нормальные зимы неоднократные переходы температуры воздуха через 0°С являются причиной неглубокого и кратковременного промерзания почв. В теплые зимы почвы остаются в талом состоянии. В суровые зимы почвы промерзают на глубину более 100 см. Поэтому изучение зимостойкости растений и разработка способов ее повышения в особых условиях зимнего периода для Калининградской области весьма актуально.

Для достижения поставленной цели работы в качестве объекта исследования была выбрана одна из важнейших сельскохозяйственных культур - озимая пшеница (*Triticum aestivum* L.) интенсивного сорта Zentos (Зентос) немецкой селекции. Исследования проводили в условиях полевого опыта на базе сельскохозяйственного предприятия «Агро-Нова», расположенного в Черняховском районе Калининградской области. При включении в технологическую схему осенней обработки посевов пшеницы этим пестицидом в концентрации 0,25 л/га наблюдали примерно 30%-ное улучшение состояния агроценозов после перезимовки, которую оценивали в баллах по степени изреженности посевов. При этом содержание сахаров в узлах кущения обработанных перезимовавших растений по сравнению с контрольными, необработанными, увеличивалось, а степень проницаемости мембран для электролитов, напротив, снижалась. В опыте отмечали также повышение в 1,6-1,7 раза доли отросших растений среди их общего числа и более сильный прирост в высоту по сравнению с контролем. В ранневесенний период состояние посевов без применения Моддуса было оценено как «удовлетворительное», с применением препарата – как «хорошее».

В целом, проведенные исследования позволили выявить положительное влияние Моддуса на комплекс показателей, свидетельствующих о повышении устойчивости растений к комплексу неблагоприятных факторов зимнего периода. Протекторное действие препарата позволяет рекомендовать его к использованию в почвенно-климатических условиях Калининградской области при совершенствовании технологии его применения с целью повышения ретардантной активности по сравнению с технологией, рекомендованной фирмой-производителем.

ПРОФИЛИ АКТИВНОСТИ ПЕРОКСИДАЗ КСИЛЕМНОГО СОКА ВДОЛЬ ВЕТВЕЙ БЕРЕЗЫ ПОВИСЛОЙ

Xylem sap peroxidase activity profiles in branches of *Betula pendula*

Рубцова Н.А., Синюков В.В., Лобанов А.В., Комиссаров Г.Г.

ФГБУН Институт химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук, Москва, Россия
gkomiss @yandex.ru

Профили изменения активности пероксидаз в ксилемном соке, определенные в ходе естественного сокодвижения при поранении, могут быть интересным путеводителем при изучении жизни растений.

21.03.2014 и 19.03.2015 в г. Москва отбирались образцы сока у пяти растущих в парке одиночных и парных берез *(Betula pendula)*. Выбор молодых берез с окружностью ствола на высоте 108-128 см обусловлен подобием у них ветвей первого порядка, с тонкой темной корой. Длина выбранных ветвей колебалась от 145 см до 300 см.

У каждой ветви первого порядка было определено пять точек забора сока. Окончанием «ветви» (далее «В») считали начало побега прошлого года и от него отсчитывали 10 см к стволу для первого среза. Последний годичный побег исключался из анализа из-за сложности определения порядка ветви при конечном разветвлении верхушки.

Затем «В» делилась пропорционально длине на четыре части так, чтобы осталось еще 10 см ветви у ствола. Диаметр таких «В» изменялся от 2,5 мм до 32 мм. Измерения показали, что частота ответвлений второго порядка в середине «В» совершала переход от величины 3,7±1,2 до 7,1±1,2 и далее увеличивалась по линейному закону. Пробы сока в окончаниях «В» первого порядка брались из среза, более толстые «В» просверливались до середины сверлом. Для сравнения, на уровне изучаемых «В» отбирались пробы сока также и в стволе через отверстия, просверленные до трети диаметра ствола. Сок хранился в темноте при температуре 6оС не более 2 ч, затем анализировался при температуре 24оС.

Активность пероксидаз определялась по скорости окисления тетраметилбензидина (ТМБ) с использованием пероксидазы хрена Sigma в качестве эталона активности. Проба сока объемом 500 мкл вводилась в СФ кювету с 3,2 мл раствора, содержащего 4,2 x10^{-4} М ТМБ BioChemica AppliChem, и 10^{-2} М H_2O_2 в цитратном буфере pH5. Поглощение регистрировалась при λ=450 нм спектрофотометром HACH-DR/4000V после 10 минут темновой инкубации с последующим введением 100 мкл стоп-раствора 12 М H_2SO_4.

Обнаружено, что в стволе на уровне «В» активность пероксидаз сока равна (5.17±0,05) x10^{-3} ед/мл. При движении от ствола к верхушке «В» активность сначала падает от величины (2,5±0,05) x10^{-3} ед /мл. до (1.25±0,05) x10^{-3} ед /мл. Далее в том же направлении у 3/5 всего количества изученных ветвей активность снова возрастает до (7,25±0,05) x10^{-3} ед/мл, а у остальных остается на том же уровне. Точка окончания спада активности пероксидаз ветви определяется в месте излома кривой зависимости частоты ответвлений второго порядка от расстояния от ствола.

Значения pH сока в стволе на высоте изучаемых «В» равно 4,82±0,14 (ниже, чем в ветвях). В направлении от ствола к верхушкам pH сока «В» у всех берез падали от 6,94±0,08 до 6,34±0,07; подобный профиль изменения величины pH не позволяет привязать к нему видимую картину изменения активности пероксидаз сока, по крайней мере у тех 3/5 ветвей, которые показали V-образные профили активности.

Уровень средней пероксидазной активности в «В» сильнее колеблется от дерева к дереву (даже у парно растущих одновозрастных берез), чем от различия длины и возраста «В» одной березы. Предположительно, это связано с различием стадий пробуждения конкретных деревьев.

Характер наблюдаемого профиля активности пероксидаз в приствольной можно объяснить возможностью переноса соком пероксидаз из ствола вдоль «В»; последующий рост активности пероксидаз ближе к верхушке, скорее всего, связан с их генерацией в этой части ветвей.

РОЛЬ КАРБОАНГИДРАЗЫ АЛЬФА-КА4 В МЕТАБОЛИЗМЕ *ARABIDOPSIS THALIANA*

The role of carbonic anhydrase alfa-CA4 in *Arabidopsis thaliana* metabolism

Руденко Н.Н., Федорчук Т.П., Игнатова Л.К., Журикова Е.М., Иванов Б.Н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, Россия; rudenko_n@rambler.ru

Карбоангидразы (КА) - ферменты, катализирующие реакцию обратимой гидратации углекислого газа, присутствуют практически во всех компартментах клеток листьев высших растений – плазматической мембране, цитоплазме, митохондриях и хлоропластах. В геноме высших растений обнаружено 19 генов, кодирующих КА, и до сих пор остается невыясненным, все ли эти гены экспрессируются, по крайней мере, в клетках листьев, осуществляющих фотосинтез - главный процесс, как в жизни растения, так и в жизни всего живого на Земле. В метаболизме водорослей и цианобактерий функции КА считаются выясненными в значительной степени, тогда как роль этих ферментов в клетках высших растений остается во многом непонятной.

Friso et al. в 2004 г., исследуя белки тилакоидов *Arabidopsis thaliana* с использованием протеомных подходов, обнаружили продукт гена *At4g20990*, кодирующего, так называемую, α-КА4. При использовании специфических праймеров к гену *At4g20990* нам удалось подтвердить, что ген этот действительно экспрессируется. Цель нашей работы состояла в выявлении роли α-КА4 в метаболизме *A. thaliana*. Расположение данного фермента в хлоропласте давало основание предполагать, что он может играть важную роль в метаболизме пластиды. Было найдено, что уровень экспрессии гена *At4g20990* в листьях *A. thaliana* зависел от интенсивности света, продолжительности светового дня и концентрации углекислоты при выращивании растений. Хотя содержание транскриптов этого гена было относительно невелико, примерно на 2-3 порядка ниже такового гена *At3g01500*, кодирующего самую обильную КА растительной клетки (β-КА1), особенно у растений, выращенных при низкой интенсивности света (80 мкмоль фотонов $м^{-2}с^{-1}$) и низкой концентрации CO_2, но возрастало при повышении концентрации углекислоты в атмосфере. Существенное возрастание уровня экспрессии этого гена наблюдалось также в листьях растений, выращенных при длинном световом дне (16 ч день/8 ч ночь) при высокой интенсивности света (400 мкмоль фотонов $м^{-2}с^{-1}$).

С использованием двух линий мутантов *A. thaliana*, каждая из которых гомозиготна по нокаутированному гену *At4g20990*, и которые отличались между собой только местоположением нокаутирующей вставки в гене, исследовали физиолого-биохимические изменения растений, лишенных альфа-КА4. Растения выращивали как при пониженной, так и при повышенной интенсивности света, предполагая, что эти мутанты в условиях высокой интенсивности света, то есть условиях, в которых наличие этой КА более важно для растения, будут испытывать больший стресс. Однако внешне мутантные растения отличались от таковых растений дикого типа, выращенных при соответствующих условиях, только немного большими размерами, что свидетельствовало о том, что растения, как при низкой, так и при высокой интенсивности света, каким-то образом адаптировались к отсутствию альфа-КА4. Ярким отличием мутантных растений обеих линий от растений дикого типа оказалось резко увеличенное содержание крахмала в листьях мутанта, что было хорошо видно по наличию крупных крахмальных зерен в хлоропластах мутантов и подтверждено при количественном определении содержания крахмала в листьях – содержание крахмала было в 2-3 раза выше в мутантах, чем в растениях дикого типа. Измерение эффективного квантового выхода ФС2, величин фотохимического и нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла *a* листьев растений дикого типа и мутантов показало, что одной из функций a-КА4 может быть участие в развитии нефотохимической диссипации энергии за счет структурных перестроек в светособирающих комплексах. Кроме того, КА принимает участие в регуляции размера светособирающей антенны ФС2, поскольку ее отсутствие приводило к изменению содержания транскриптов и белков светособирающего комплекса ФС2 (ССК) – LHCB1-6 и PsbS, что было определено методом количественной ПЦР, электрофореза в денатурирующих условиях и вестерн-блот анализа с антителами к соответствующим белкам. При этом изменения, происходящие в листьях *A. thaliana* в результате выключения альфа-КА4, обнаруживались как на уровне транскрипции генов, так и трансляции белков ССК. Характер этих изменений зависел от интенсивности света, продолжительности светового дня и возраста растения. Кроме того, в растениях, в которых отсутствовал минорный белок альфа-КА4, существенно увеличивался уровень экспрессии генов других КА, α-КА2 и весьма высокоэкспрессивных β-КА1 и β-КА2.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ 14-04-32323.

МИКРОВЕЗИКУЛЫ ИЗ СРЕДЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЫ ГРЕЧИХИ ТАТАРСКОЙ: ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКИЙ И БИОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Microvesicles isolated from culture medium of tartary buckwheat suspension culture: an electron microscopic and biochemical study

Румянцева Н.И.[1], Акулов А.Н.[1,2], Сальников В.В.[1,2], Евтюгин В.Г.[2], Костюкова Ю.А.[1], Гумерова Е.А.[1], Лайков А.В.[2], Логачева М.Н.[3], Осин Ю.Н.[2]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук, Казань, Республика Татарстан, Россия*
nat_rumyantseva@mail.ru

[2] *Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Республика Татарстан, Россия*

[3] *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

В последние годы интерес к изучению секретомов растений значительно вырос, что подтверждается публикациями, анализирующими секретомы не только модельных растений с секвенированным геномом, таких как резуховидка Таля, рис, тополь, виноград и люцерна, но и других, геном которых до сих пор не аннотирован. Тем не менее, мы далеки от понимания биологических функций этого растительного компартмента. Установлено, что от 40 до 70% экзоцитируемых белков растений представлены белками, не имеющими лидерной последовательности, что позволяет предполагать существование механизмов неклассической секреции в растениях – посредством микровезикул - экзосом или эктосом. К настоящему времени опубликовано всего две работы, в которых показано, что растения могут секретировать микровезикулы, содержащие белки. Ранее нами было установлено, что циклическое образование проэмбриональных клеточных комплексов (ПЭКК) в эмбриогенных каллусах гречихи татарской, связано с активацией экзоцитоза и растяжением одних клеток, впоследствии образующих «мягкий» каллус, или ткань-няньку, и инициацией деления в других клетках, которые не подвергаются растяжению и формируют новые ПЭКК. В дальнейшем, при изучении секреторных процессов, связанных с растяжением клеток ПЭКК на уровне трансмиссионной микроскопии, мы обнаружили как на поверхности клеток ПЭКК, так и в межклетниках везикулярные структуры, что дало нам основание предположить, что в клетках растений, также как и в клетках животных, возможна неклассическая везикулярная секреция. Целью наших исследований было изучить секреторные процессы в каллусной и суспензионной культуре гречихи татарской, выделить микровезикулы, изучить их морфологию, проанализировать везикулярные белки. Выявлено, что выделение микровезикул клетками эмбриогенных (каллусной и суспензионной) культур гречихи татарской *Fagopyrum tataricum* стимулируется пересадкой на среду с ауксином и совпадает с активацией экзоцитоза, процессами растяжения и дифференцировки клеток. Поскольку выделение микровезикул из каллусных культур оказалось методически сложным, мы перевели каллус в жидкую среду и получили суспензионную культуру, которая сохраняла эмбриогенную активность и в которой так же, как и в каллусе, наблюдались циклы разрыхления и новообразования ПЭКК. Нами была проведена серия опытов по выделению и очистке экстраклеточных микровезикул из суспензионных культур гречихи татарской. Выделенные микровезикулы были изучены с помощью различных методов электронной микроскопии (негативное контрастирование, сканирующая и трансмиссионная электронная микроскопия), проанализированы их морфология и размеры. С помощью гель-электрофореза и LS-MS/MS показано, что микровезикулы содержат белки, 32 из которых было идентифицировано. Сделано предположение, что изучаемые микровезикулы могут быть аналогами экстраклеточных микровезикул млекопитающих, выделение которых из клеток осуществляется через механизмы неклассической секреции.

ТРАНСКРИПТОМНЫЙ И ПРОТЕОМНЫЙ АНАЛИЗ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР ГРЕЧИХИ ТАТАРСКОЙ С РАЗНОЙ СПОСОБНОСТЬЮ К МОРФОГЕНЕЗУ

Transcriptomic and proteomic profiling of tartary buckwheat callus cultures with different morphogenic ability

Румянцева Н.И.[1], Логачева М.Д.[2], Пенин А.А.[2], Акулов А.Н.[1,3], Демиденко Н.В.[3], Лайков А.В.[3], Костюкова Ю.А.[1], Гумерова Е.А.[1]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук, Казань, Республика Татарстан, Россия*
nat_rumyantseva@mail.ru

[2] *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

[3] *Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Республика Татарстан, Россия*

Сочетание транскриптомного профилирования и протеомного анализа позволяет наиболее полно описывать реакцию организма на определенные внешние факторы, а также выявлять гены и белки, участвующие в реализации различных физиологических событий - адаптации, росте, морфогенезе и др. Удобными моделями для проведения таких исследований являются каллусные культуры - постоянно пролиферирующие клетки растений, способные к проявлению различных типов морфогенеза.

Впервые проведен транскриптомно-протеомный анализ каллусных культур, различающихся по морфогенной активности. В качестве объекта использовали морфогенные и неморфогенные каллусы гречихи татарской *Fagopyrum tataricum*. Для проведения исследований использовали методы высокопроизводительного секвенирования, выполненного на платформе Illumina HiSeq 2000, а также методы двумерного электрофореза, масс-спектрометрии и биоинформатического анализа. Морфолого-цитологическую характеристику культур проводили на основе гистологических и электронно-микроскопических исследований. При сравнении профилей экспрессии генов морфогенного и неморфогенного каллусов одного возраста было выявлено около 4000-4500 дифференциально экспрессирующихся генов, из которых 1667 генов сильнее экспрессировались в неморфогенных культурах по сравнению с морфогенными, и 1386 генов сильнее экспрессировались в морфогенном каллусе по сравнению с неморфогенным. Протеомный анализ позволил визуализировать около 1000 белковых пятен в каждом каллусе и не более 200 – со значительной разницей по уровню накопления белка. Гены, экспрессия которых была увеличена или уменьшена более чем в 2 раза по сравнению с контролем (контроль – морфогенный каллус), классифицировали согласно участию кодируемых ими белков в определенных биологических процессах, выполняемым молекулярным функциям, а также выполнению функции в определенном клеточном компартменте. Идентифицированные белки классифицировали согласно их локализации в клетке и выполняемой функции. В целом, транскриптомный анализ дал значительно более широкую картину отличий в сравнении с протеомным анализом. Тем не менее, данные протеомного анализа подтвердили, что для морфогенных культур характерна высокая экспрессия защитных белков, таких как глутатион-S-трансферазы, патогенез-связанные белки, тиоловая пероксидаза 1-Цис пероксиредоксин и др. Можно полагать, что культуры, способные к регенерации, должны иметь высокий уровень антиоксидантной защиты, который, с одной стороны, позволяет защищать генетический аппарат клеток от повреждений, вызываемых активными формами кислорода, а, с другой стороны, эффективно контролировать редокс-регуляцию сигналлинга.

Проведенный транскриптомно-протеомный анализ морфогенного и неморфогенного каллусов гречихи татарской показал, что использованные подходы могут иметь хорошую перспективу при изучении механизмов, определяющих физиологические особенности растительных объектов, их морфогенетические, адаптивные и другие свойства. Гречиха татарская имеет небольшой по размеру геном (около 0,5 ГБ) и может быть использована в дальнейшем как модельный объект для молекулярно-биологических исследований.

ВОДООБМЕН И ПРОДУКТИВНОСТЬ ГЕНОТИПОВ ПОЛИПЛОИДНЫХ ФОРМ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ ПОЧВЕННОЙ ЗАСУХИ

Water relations and productivity of polyploid genotypes of wheat under soil drought conditions

Рустамов А., Эргашев А., Абдуллаев А.

Институт ботаники, физиологии и генетики растений АН Республики Таджикистан, Душанбе, Республика Таджикистан; Anis.rustamov@gmail.com

Происходящие глобальные изменения климата могут привести к сдвигу сложившегося равновесия системы климат-водные ресурсы-вегетация сельскохозяйственных культур-урожай. Поэтому изучение влияния засухи на сельскохозяйственные культуры чрезвычайно важно для понимания возможных последствий изменения климата. Для Таджикистана, как горной страны, данная проблема имеет свою специфику и особое значение. Поскольку наблюдаются самые разнообразные типы климата – от типичной жаркой пустыни с малым годовым количеством осадков до климата высокогорной зоны с отрицательной среднегодовой температурой. В задачи наших исследований входила изучение влияния почвенной засухи на составляющие хозяйственного урожая сортов полиплоидны форм мягкой пшеницы

Объектами исследования служили сорта мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) Голоколоска и Галгалос, полученные из коллекции ВИР им. Н. И. Вавилова.

Проведенные исследования показали, что общее содержание воды в листьях, в зависимости от условий водообеспечения, были различными. При оптимальном водоснабжении оводненность листьев была выше, чем в условиях дефицита влаги. Этот показатель составил у с. Голоколоска в фазе кущения в варианте «полив» 84,3%, а в варианте «засуха» - 75,7%. В фазе трубкования при поливе оводненность тканей составила 81,1%, а при засухе 75,4%, у с. Галгалос в фазе кущения – 84,8% и 82,8%, а в фазе трубкования 78,9% и 70,8%, соответственно.

Водоудерживающая способность листьев на фоне почвенной засухи была значительно выше, чем в варианте с оптимальным водоснабжением. В фазе кущения у с. Голоколоска при поливе она составляли 47,1%, а при почвенной засухе – 37,9%. В фазе трубкования при поливе потеря воды за 1 ч составила 51,4%, при засухе – 57,1%, а у с. Галгалос в фазе кущения при поливе – 55,3%, при засухе – 43,6%. В фазе трубкования в обоих вариантах опыта потеря воды у этого сорта скорость потери воды возрастала еще больше.

В фазе кущения интенсивность транспирации с. Голоколоска в условиях почвенной засухи была почти в два раза ниже, чем при поливе, а у с. Галгалос интенсивность транспирации снижалось примерно в три раза. В фазе трубкования у с. Голоколоска интенсивность транспирации по сравнению с фазой кущения в варианте «полив» уменьшилась на 28%, а при засухе, оставалась на таком же уровне. Вместе с тем, у с. Галгалос интенсивность транспирации в этой фазе при поливе падала на 23%, а в условиях засухи, наоборот повысилась на 39%.

Реальный водный дефицит листьев у пшеницы с. Голоколоска и Галгалос в зависимости от воздействия высокой температуры воздуха в обоих вариантах опыта (полив и засуха) был подвержен заметному изменению. В ранновесенний период разница уровня реального водного дефицита между сортами и вариантами опыта была несущественна. В фазе кущения у с. Голоколоска при поливе дефицит составил 11,5%, в варианте «засуха» - 14,2%, а в фазе трубкования в условиях нормального водообеспечения – 12,4%, при дефиците – 17,6%. У с. Галгалос в фазе кущения водный дефицит в варианте «полив» достиг - 12%, при засухе – 18,5%, а в фазе трубкования соответственно – 18,1% и 21,7%.

Полученные нами данные показали, что растения произрастающие в условиях почвенной засухи по сравнению с оптимальным водообеспечением (контроль) высота главного стебля у с. Голоколоска снизилась на 10%, а у с. Галгалос на 22%. При этом длина колос у с. Голоколоска сократилась на 7,3%, а у с. Галгалос на 16%. Вес колоса у этих сортов в варианте «засуха» снизилась на 25 и 22,3% соответственно. Количество в одном колосков в условиях почвенной засухи уменьшилась у с. Голоколоска почти на 9%, а у с. Галгалос на 22,3%

Количество зерен в колосе у с. Голоколоска под воздействием засухи сократилась более чем на 31%, а у с. Галгалос почти на 25%. В условиях засухи у обоих сортов масса зерен одного колоса оставалась на одном уровне.

Масса 1000 зерен с. Голоколоска значительно меньше чем у с. Галгалос. Однако почвенная засуха в большей степени имел отрицательное воздействие на массу 1000 семян с. Голоколоска и по сравнению с вариантом «полив» она уменьшилась на 19%.

Таким образом, полученные нами данные показывают, что почвенная засуха приводить к существенному изменению показателей водообмена и структуры продуктивности колоса и в итоге значительно снижает, уровень хозяйственного урожая растений.

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА ЛИНАРОЗИД НА ПИГМЕНТНЫЙ КОМПЛЕКС ЛИСТЬЕВ ЯБЛОНИ

Influence of Linarozid on pigments in apple-tree leaves

Русу М.М., Балмуш Г.Т, Мащенко Н.Е.

Институт генетики, физиологии и защиты растений АН Молдовы, Кишинев, Республика Молдова
black78@mail.ru

Одним из важных аспектов современных исследований фотосинтеза, роста и продуктивности растений является экзогенная регуляция этих процессов с целью их оптимизации. В последнее время все больше внимания в этом плане уделяется регуляторам роста природного типа, что обусловлено широким спектром их действия на растения, возможностью регулировать отдельные этапы роста и развития с целью мобилизации потенциальных возможностей растения, что является приоритетным направлением в физиологии плодовых растений. Наибольший интерес в этом плане представляют иридоидные гликозиды, оказывающие значительное влияние как на вегетативную, так и репродуктивную сферу растений, способные поддерживать метаболизм последних на оптимальном уровне в засушливые периоды вегетации, что говорит об их стресс-протекторной функции. В связи с этим нами изучалось действие одного из представителей данного класса-Линарозид, полученного из *Linaria vulgaris* Mill в нашем институте, на некоторые ростовые параметры и содержание пигментов в листьях яблони.

Исследования проводились на молодых деревьях яблони сорта Мичгла в условиях лизиметра.

Проведенные исследования показали, что растения яблони весьма отзывчивы на применение Линарозида. Отмечено, что регуляторная роль препарата сохранялась в течение всего периода вегетации, что дает возможность направленно регулировать физиологические процессы в растении.

Показаны коррелятивные взаимоотношения между сортом, функциональными особенностями препарата, интенсивностью роста и содержанием пигментов.

Так обработка оказывала стимулирующее действие на процессы роста: активировала рост растений в высоту, способствовала росту однолетних побегов, увеличению параметров листовой пластинки, что играет важную роль в процессе фотосинтеза. Установлено, что длина побегов и их диаметр, коррелирующий с фотосинтетической продуктивностью у контрольных растений уступал опытным.

Обработка Линарозидом приводила к увеличению размеров листовой пластинки, где длина и ширина на 5-6% превышала контроль, а площадь ее превалировала над контролем на 10-12%, что способствовало активации работы фотосинтетического аппарата, интенсивность которого зависит от содержания фотосинтетических пигментов, являющихся одними из чувствительных индикаторов реакции фотосинтетического аппарата на экзогенное воздействие и играющих важную роль в реализации фотосинтетической функции и продуктивности растений.

Показано, что обработка стимулирующе действовала на пигментогенез. Отмечено, что Линарозид способствовал увеличению суммарного содержания зеленых пигментов, хлорофилла *a*, *b*, каротиноидов (кар).

Особо четкое действие оказывал препарат на содержание хлорофилла *a*, что имеет важное значение, ибо он определяет физиологическое состояние и потенциальную возможность растения в формировании урожая.

Отмечены различия в сумме хлорофиллов и хлорофилла *a* в зависимости от расположения на вегетативных или репродуктивных образованиях, где у последних все показатели выше. Максимальное значение хлорофилла *a* было отмечено в листьях, расположенных у плодов.

Показана разница в содержании хлорофилла *a* в зависимости от яруса кроны. Обработка в большей степени способствовала увеличению хлорофилла *a* в листьях среднего яруса.

Положительное влияние оказывала обработка и на содержание хлорофилла *b* - дополнительного пигмента, участвующего в мобилизации защитных сил организма.

Препарат способствовал и накоплению каротиноидов, которые вместе с хлорофиллом *b* являются компонентами антиоксидантной защиты растений и увеличение показателей которых, возможно, является усилением адаптивных возможностей сорта.

Наибольшее изменения в содержании пигментов отмечены в период закладки цветочных почек, где показано снижение соотношения хл *a/b* за счет усиления хлорофилла *b* и хл *a/*кар за счет увеличения каротиноидов, что указывает на роль последних в процессе закладки цветочных почек.

Полученные результаты позволяют сделать вывод, что действие Линарозида осуществляется через изменение пластидных пигментов, где основанные изменения претерпевают хлорофилл *a*, *b*, каротиноиды, что, возможно, является одним из механизмов воздействия данного препарата на растения яблони.

Линарозид можно считать перспективным препаратом для яблони благодаря высокой эффективности при низкой концентрации, обеспечивающей активное воздействие на рост, развитие и продуктивность яблони, создавая оптимальный уровень пластидных пигментов и их соотношение для определенной фазы вегетации.

ИЗМЕНЕНИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛИТОРАЛЬНЫХ ВОДОРОСЛЕЙ В ПЕРИОД ОТЛИВА

Changes in physiological parameters in intertidal brown algae during emersion period

Рыжик И.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Мурманский морской биологический институт Кольского научного центра Российской академии наук, Мурманск, Россия; alaria@yandex.ru

Осушение является одним из важнейших факторов среды, определяющих существование и распределение растений в литоральной зоне. Во время отлива у макроводорослей меняется содержание воды в талломе, уровень фотосинтеза и дыхания, скорость роста. Существующие у литоральных водорослей адаптации, например, накопление и выделение на поверхность таллома веществ, удерживающих влагу, разное содержание воды в различных участках таллома, позволяют им выдерживать длительный период осушения. Имеющиеся в литературе сведения о физиологическом состоянии водорослей в период отлива противоречивы, что связано с комплексностью фактора осушения, который кроме непосредственного нахождения организма вне водной среды включает в себя также изменение температуры, освещенности, возможного воздействия атмосферных осадков.

Физиологические показатели растительного организма в период отлива изменяются поэтапно вслед за изменением внешних параметров.

В начальный период отлива происходит увеличение интенсивности освещения и температуры таллома, что влечет за собой активизацию процессов фотосинтеза. У литоральной водоросли *Fucus vesiculosus* в течение первого часа отлива скорость фотосинтеза увеличивается в 4 раза, вслед за этим ИФ падает. У *F. serratus* наблюдаются сходные изменения.

С другой стороны увеличение интенсивности освещения вызывает повышение тепловой диссипации и количества синглетного кислорода или активных кислородных радикалов в клетках водорослей. Накопление активных форм кислорода (АФК) можно рассматривать как сигнальный механизм начала перестройки ферментной системы и адаптации организма к периоду отлива. Перекисное окисление липидов увеличивается в первый час отлива в два раза, спустя 3 ч нахождения без воды уровень ПОЛ возвращается на начальный уровень и стабилизируется.

В период отлива изменятся содержание воды в тканях растения, процесс обезвоживания находится в прямой зависимости от температуры окружающей среды: чем выше она, тем быстрее происходит обезвоживание. Скорость обсыхания будет зависеть также от вида растений. *Fucus vesiculosus* будет терять воду медленнее, чем *F. serratus.* Еще один показатель, для которого показано изменение в период отлива – аминокислота пролин. По предварительным данным концентрация аминокислоты у *Fucus vesiculosus* в первые 3 ч отлива уменьшается в 2 раза, к 3-4 ч отлива ее количество увеличивается и достигает начального уровня.

Мы предполагаем, что осушение в период отлива не является для водорослей стрессом, так как они испытывают воздействие фактора 2 раза в сутки и у них эволюционно выработались механизмы, позволяющие им выживать в меняющихся условиях и быстро адаптироваться к ним. Возможно, у растений биологические ритмы синхронизировались с приливно-отливными, что позволяет им начинать перестройку метаболизма еще до начала собственно периода осушения.

ВЛИЯНИЕ ГИДРОКСИДА МЕДИ И ПРОКВИНАЗИДА НА МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ РАСТЕНИЙ И СОСТАВЛЯЮЩИЕ СТРУКТУРЫ УРОЖАЯ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ

Effect of copper hydroxide and proquinazid on plant morphometric parameters and components of yield in winter wheat

Рязанова М.Е.

Институт физиологии растений и генетики НАН Украины, Киев, Украина; marina.rz@mail.ru

Зерновые культуры играют важную роль в питании человека и животных. Среди них озимая пшеница имеет первостепенное значение. В этой связи оптимизация минерального питания данной культуры является важной задачей для производства высококачественной сельскохозяйственной продукции. Доступность макро- и микроэлементов в известной мере определяет количество и качество урожая зерновых. Медь является одним и необходимых элементов для питания растений, поскольку принимает участие в процессах фотосинтеза, дыхания, регуляции углеводного и липидного обменов, формировании пыльцы и лигнификации. Следует отметить, что даже небольшой дефицит меди в почве приводит к снижению урожая зерновых. Вместе с тем диапазон концентраций, оптимальных для нормального роста и развития растений достаточно узок. Поэтому внекорневая подкормка медь-содержащими препаратами является оптимальным решением для коррекции дефицита этого элемента у зерновых без значительного увеличения содержания меди в окружающей среде. Фунгицидные свойства меди делают ее также важным компонентом многих пестицидов.

Немаловажным условием для получения высоких урожаев является защита посевов от грибных заболеваний. Мучнистая роса (возбудитель *Blumeria graminis f. sp. tritici*) – является широко распространенной болезнью злаковых, особенно в районах выращивания зерновых колосовых культур Полесья и Лесостепи. Поражение посевов данным возбудителем приводит к щуплости зерна и снижению урожайности в целом. Среди специализированных фунгицидов проквиназид и препараты на его основе широко используются для защиты посевов от мучнистой росы.

На сегодняшний день актуальными остаются вопросы взаимодействия агрохимикатов, в том числе фунгицидов, и их влияния на показатели урожайности и качества зерна. В связи с этим целью данной работы было исследовать влияние меди и проквиназида в составе фунгицидов на структурные показатели растений и урожай зерна озимой пшеницы.

Объектом исследований была озимая пшеница (*Triticum aestivum* L.) сорт Смуглянка. Исследования проводили в опытном сельскохозяйственном производстве Института физиологии растений и генетики НАН Украины. Варианты опыта включали обработку $Cu(OH)_2$ (Косайд 2000) в дозе 150 и 300 г/га, проквиназидом (Талиус) 0,25 л/га и комбинацией $Cu(OH)_2$ и проквиназидом в дозах 150 г/га и 0,25 л/га соответственно.

Обработка фунгицидами в фазу кущения увеличивает число общих и продуктивных стеблей у растений озимой пшеницы. При этом наибольший эффект на количество продуктивных побегов наблюдался при обработке гидроксидом меди количестве 300 г/га. Количество продуктивных побегов в этом варианте увеличивалось на 35% по сравнению с контролем. Варианты с использованием проквиназида и его комбинации с гидроксидом меди увеличивали данный показатель на 30 и 23 % соответственно. Исследуемые препараты не оказали статистически значимого влияния на длину колоса и высоту растений, но способствовали увеличению надземной массы растений. Следует отметить увеличение массы 1000 зерен во всех вариантах опыта при сравнении с контролем, а тенденцию к возрастанию количества белка.

Обработка растений пшеницы гидроксидом меди обеспечила увеличение урожая на 10 ц по сравнению с контрольным вариантом (без обработки). Опрыскивание проквиназидом увеличило урожайность на 14 ц. Подобные результаты можно объяснить улучшением усвоения и реутилизации азота, лучшего распределения продуктов фотосинтеза в процессе вегетации и более продолжительной работой фотосинтетического аппарата. Использование данных фунгицидов на начальных этапах развития позволяет снизить вредоносность мучнистой росы, что также оказывает влияние на продуктивность растений пшеницы.

Таким образом, обработка гидроксидом меди и проквиназидом улучшает структурные и количественные показатели урожая без снижения белковости зерна и является важным элементом выращивания высокопродуктивных зерновых колосовых культур.

ИССЛЕДОВАНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ВОСПРИЯТИЯ ЦИТОКИНИНОВОГО СИГНАЛА С ПОМОЩЬЮ СИНТЕТИЧЕСКИХ *N*6-ПРОИЗВОДНЫХ АДЕНИНА

Study of cytokinin signal perception features using synthetic *N*6-adenine derivatives

Савельева Е.М.[1], Гетман И.А.[1], Михайлов С.Н.[2], Романов Г.А.[1]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; savelievaek@yandex.ru*

[2] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва, Россия*

Цитокинины – регуляторы роста и развития растений с широким спектром действия. Восприятие клеткой цитокининового сигнала происходит с помощью рецепторов – мультидоменных трансмембранных белков с гистидинкиназной активностью. Растения обладают, как правило, несколькими изоформами рецепторов цитокининов, сходных по первичной и доменной структурам и различающихся по лигандной специфичности. Предмет наших исследований – молекулярные основы функциональных различий этих близкородственных белков. Один из путей исследования особенностей взаимодействия лиганд-рецептор – использование синтетических *N*6-производных аденина, близких по структуре к природным цитокининам. Это позволяет расширить спектр взаимодействующих с рецепторами лигандов и выявить новые особенности лиганд-рецепторных взаимодействий как для отдельных видов растений, так и для каждой из изоформ рецептора.

В экспериментах мы использовали проростки амаранта (*Amaranthus caudatus*) и проростки двойных мутантов арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana*) по рецепторам цитокининов (AHK2, AHK3, CRE1/AHK4) с репортерным геном *GUS*, находящимся под контролем промотора гена первичного ответа на цитокинины *ARR5*, а также проростки *Parr5:GUS* со всеми рецепторами. В биотестах на основе этих растений мы исследовали цитокининовую активность 10 синтетических аденин-подобных соединений, сравнивая ее с активностью типичного природного цитокинина *N*6-бензиладенина (БА).

По результатам биотеста с арабидопсисом мы выявили группу исследуемых веществ, не проявляющих цитокининовой активности. В нее вошли все соединения с метильной группой при N-9, и гипоксантиновым производным с более длинным, чем у БА, линкером. В амарантовом биотесте таких соединений выявили только два, но они также входят в указанную группу. По-видимому, цитокининовые рецепторы растений обоих видов не способны связывать производные аденина с удлиненным линкером. Однако наличие метильной группы при N-9 не является для рецепторов амаранта, в отличие от рецепторов арабидопсиса, препятствием для связывания. Группа соединений, проявляющая максимальную активность, оказалась для амаранта и арабидопсиса одинаковой. В нее вошли вещества, имеющие галоген при С-2 и фенильный радикал, аналогичный БА, или с дополнительным фтором в пара-положении. В целом, наличие галогена при С-2 достаточно слабо влияло на активность аденин-производных, немного снижая ее по сравнению с БА. Но в ряде случаев присоединение к С-2 атома фтора повышало, по сравнению с БА, активность соединения.

В биотесте с трансгенным арабидопсисом группы исследуемых соединений, проявляющие/не проявляющие цитокининовую активность, были практически одинаковы у растений с разными вариантами работающих рецепторов. Однако 2 из 10 соединений оказались рецептор-специфичны. Одно из них в определенных концентрациях воздействовало только на рецептор AHK3. Оно отличается от БА наличием атома хлора при С-2 и дополнительной метильной группы в бензильном остатке. Можно предположить, что именно наличие дополнительной метильной группы сильно снижает активность этого соединения с рецепторами AHK2, CRE1/AHK4, но не AHK3 арабидопсиса. Хотя большинство исследуемых соединений в биотесте с арабидопсисом не специфичны к его цитокининовым рецепторам по абсолютному показателю «есть-нет эффект», уровни проявляемой соединениями активности существенно различаются у растений с индивидуальными работающими рецепторами. Так, на растениях с единственным рецептором AHK2 мы получили наименьшие, по сравнению с остальными линиями, показатели цитокининовой активности всех веществ, включая БА. Активность некоторых соединений, проявляемая у растений с рецептором AHK3, близка к таковой у растений с тремя работающими рецепторами. А растения с рецептором AHK4 обладают, по сравнению с остальными, наименьшей селективностью к исследуемым веществам.

В результате проведенного скрининга 10 синтетических *N*6-производных аденина на цитокининовую активность мы выявили заметное сходство в особенностях реакции на них у растений эволюционно далеких видов. Но найдены и отдельные различия, причем не только между растениями разных семейств, но растениями одного вида (арабидопсис) с разными наборами рецепторов цитокининов. На основе этих и литературных данных можно заключить, что рецепторная специфичность в большей степени определяется количественно, по соотношению уровней активности различных версий цитокининов; при этом имеется группа синтетических производных БА с высоким сродством практически к любым рецепторам цитокининов.

Работа поддержана грантами РФФИ 14-04-01714 и 14-04-00835.

АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В Mn-СОД И Fe-СОД ТРАНСФОРМАНТАХ ТАБАКА

Activity of antioxidant enzymes in Mn-SOD and Fe-SOD tobacco transformants

Савина С.М., Шалыго Н.В.

Государственное научное учреждение «Институт биофизики и клеточной инженерии Национальной академии наук Беларуси», Минск, Республика Беларусь; svetlanapavluchkova@yandex.ru

Проведен сравнительный анализ активности антиоксидантных ферментов табака (*Nicotiana tabacum* L.), трансформированных геном митохондриальной СОД (Mn-СОД) и хлоропластной СОД (Fe-СОД) арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana* L.) с лидерной последовательностью для транспортировки СОД в митохондрии и хлоропласты соответственно. В опытах использовали 3-4-й лист 45-дневных проростков трансгенных растений табака и дикого типа (ДТ). Семена трансформантов были любезно предоставлены профессором Б. Гриммом (Берлинский университет им. А. Гумбольдта, Германия). Растения выращивали в пластмассовых емкостях в грунте «Восторг» (РБ), используя люминесцентные лампы белого света Philips TL-D 36W/765, режим 14 ч света с интенсивностью 160 мкмоль квантов·м$^{-2}$·с$^{-1}$ и 10 ч темноты при температуре 25±2°С и относительной влажности воздуха 50-60%.

С помощью нативного гель-электрофореза в ДТ удалось определить 5 изоформ СОД: митохондриальную Mn-СОД, хлоропластную Fe-СОД, 1 цитозольную и 2 хлоропластные Cu/Zn-СОД. В Fe-СОД и Mn-СОД трансформантах были зафиксированы по одной дополнительной изоформе СОД – Fe-СОД и Mn-СОД соответственно, принадлежащие арабидопсису. Показано, что 90% Fe-СОД арабидопсиса в трансгенных растениях табака локализовано в цитозоле, в то время как на хлоропласты приходится только 10%, что может быть обусловлено недостаточным содержанием белка-транспортера Fe-СОД. Установлено, что вся Mn-СОД арабидопсиса локализована в табаке в митохондриях.

Анализ активности изоформ СОД в ДТ показал, что на долю Mn-СОД приходится 45% от общей активности СОД, при этом активность цитозольной Cu/Zn-СОД составляла 27%, а активность Fe-СОД и хлоропластной Cu/Zn-СОД была одинаковой и составила 14%.

Fe-СОД трансформанты характеризовались повышенной общей активностью СОД, превышающей данный показатель в ДТ в 2 раза. Активность Fe-СОД в них была в 7 раз выше, чем в нетрансформированных растениях за счет возрастания доли Fe-СОД, которая составила 54% от общей активности фермента. Трансформация приводила не только к увеличению активности Fe-СОД, но и повлияла на активности других изоформ СОД, что выражалось в снижении активности Mn-СОД, цитозольной и хлоропластной Cu/Zn-СОД до 16, 18 и 12% от общей активности СОД соответственно.

В Mn-СОД трансформантах общая активность СОД была выше ДТ в 1,4 раза. После трансформации активность Mn-СОД возросла незначительно и составила 50% от общей активности фермента, на долю Fe-СОД цитозольной и хлоропластной Cu/Zn-СОД приходилось 15, 17 и 18% соответственно.

В трансформантах зарегистрировано увеличением активности аскорбатпероксидазы (АПР). В частности, общая активность АПР в трансгенных по Fe-СОД растениях была выше на 27%, а в Mn-СОД трасформантах – на 16% по сравнению с ДТ. Анализ изоформ АПР показал, что в ДТ активность цитозольной изоформы АПР превышала активность хлоропластной изоформы фермента в 2 раза. Установлено, что в Mn-СОД трансформантах повышение активности АПР обусловлено возрастанием активности обеих изоформ фермента в равной степени. В Fe-СОД трансформантах повышение активности АПР связано с возрастанием активности преимущественно хлоропластной изоформы АПР. В трансформантах табака наряду с активацией СОД и АПР происходила также активация и глутатионредуктазы. Общая активность глутатионредуктазы в трансгенных по Mn-СОД растениях превышала ДТ на 30%, а в трансгенных по Fe-СОД растениях – на 4%. Активность каталазы в Fe-СОД и Mn-СОД трансформантах и ДТ надежно не отличалась, хотя и просматривалась тенденция к увеличение ее общей активности в трансгенных растениях.

Таким образом, показано, что трансформация растений табака генами Mn-СОД и Fe-СОД арабидопсиса потенцирует антиоксидантную систему, что выражается в возрастании не только активности Mn-СОД и Fe-СОД, но и в увеличении активности других антиоксидантных ферментов, таких как АПР и ГР по сравнению с ДТ. Проведенный нами анализ динамики окислительных процессов показал, что трансгенные растения с потенцированной антиоксидантной системой имели более низкий уровень активных форм кислорода, в них менее интенсивно протекали процессы перекисного окисления липидов.

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ГИДРОПЕРОКСИДЛИАЗНОЙ ВЕТВИ ПУТИ БИОСИНТЕЗА ОКСИЛИПИНОВ В УСЛОВИЯХ БИОТИЧЕСКИХ И АБИОТИЧЕСКИХ СТРЕССОВ

Differential regulation of the hydroperoxide lyase branch of the oxylipin biosynthesis pathway under biotic and abiotic stress conditions

Савченко Т.В.[1], Дехеш К.[2], Шао Я.[2]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук, Пущино, Московская обл., Россия; savchenko_t@rambler.ru*
[2] *Калифорнийский университет в Дэвисе, Отдел биологии растений, Дэвис, Калифорния, США*

Оксилипины - группа метаболитов, которые образуются из окисленных жирных кислот во всех аэробных организмах от бактерий до человека. В растениях биосинтез оксилипинов инициируется в хлоропластах в результате взаимодействия липазы с липидами мембран, что в результате приводит к освобождению полиненасыщенных жирных кислот, главным образом линолевой и линоленовой. Спомощью липоксигеназ образуются гидропероксиды жирных кислот, которые могут стать субстратом для ферментов нескольких параллельных ветвей пути биосинтеза оксилипинов. При участии гидропероксидлиазы (ГПЛ) из гидропероксидов жирных кислот образуются альдегиды и альдокислоты. В дальнейшем альдегиды спонтанно или с участием ферментов могут изомеризоваться или превращаться в спирты, гидрокси- и ацетопроизводные. Летучие альдегиды и их производные являются основным компонентом аромата зеленых листьев, обладают антигрибковыми и антибактериальными свойствами и выступают активными участниками сложной сигнальной системы, обеспечивающей экологические взаимодействия между организмами. Имеются данные о роли метаболитов ГПЛ ветви в защите растений от насекомых и патогенов и в адаптации растений к неблагоприятным условиям абиотической среды. Для изучения регуляции биосинтеза и функций метаболитов ГПЛ ветви в формировании стрессовых ответов растений нами были использованы разнообразные подходы, включая позиционное клонирование мутации, приводящей к конститутивной экспрессии гена *ГПЛ*, анализ экспрессии генов пути биосинтеза оксилипинов и исследование профиля оксилипинов в модельном растении *Arabidopsis thaliana*. Результаты исследований свидетельствуют о сложной регуляции процесса образования метаболитов ГПЛ ветви при воздействии различных биотических и абиотических факторов среды. Получены доказательства ретроградной регуляции экспрессии ядерного гена *ГПЛ* метаболитами, образующимися в пластидах. Роль метаболитов ГПЛ ветви в формировании устойчивости растений к различным условиям среды подтверждена в экспериментах с использованием трансгенных растений *Arabidopsis thaliana* с измененным профилем оксилипинов.

FLOWGENE: ИНТЕГРИРОВАННАЯ БАЗА ДАННЫХ ПО *ARABIDOPSIS THALIANA*

FlowGene: *Arabidopsis thaliana* integrated data base

Садовская Н.С., Тюрин А.А., Мустафаев О., Голденкова-Павлова И.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия; irengold58@gmail.com, nataliya.sadovskaya@gmail.com

Экспоненциальный рост геномного секвенирования привел к созданию многочисленных баз данных, охватывающих колоссальный объем информации, начиная от последовательностей генов и заканчивая картами метаболических путей. Все эти базы данных позволяют получить самый полный (широкий) набор сведений для отдельно взятого гена или группы генов. В тоже время, они не дают возможность самостоятельно составить выборки нуклеотидных последовательностей по различным параметрам удовлетворяющим запросам исследователя.

Нами создана база данных FlowGene, в которой содержится информация о модельном растении *A. thaliana*. FlowGene предоставляет возможность сформировать наборы нуклеотидных последовательностей, согласно критериям пользователя. Например, отобрать гены по длинам кодирующих/некодирующих областей и их GC составу, либо, опираясь на то, стабилизирующими или дестабилизирующими остатками представлена вторая аминокислота, какие триплеты ее кодируют и многое другое. Удобный интерфейс Flowgene позволяет отображать выбранные параметры как численно, так и в виде графиков. Это значительно облегчает предварительный анализ и дальнейшую работу исследователя. Кроме того, в базе данных представлены значения экпрессионного анализа для основных биологических процессов. Следует отметить, что для удобства пользователей все гены снабжены прямой ссылкой на сайт TAIR. В настоящее время, FlowGene доступен по ссылке http://flowgene.az/ .

Структурно-функциональный анализ последовательностей генов растений позволил выявить ряд генетических детерминант, которые потенциально могут влиять на эффективность экспрессии гетерологичных генов. Полученные данные биоинформационного анализа использованы для конструирования серии модульных векторов, в которых учтено большинство факторов, обеспечивающих стабильную и эффективную экспрессию трансгенов в растениях.

Экспериментальная верификация функциональной значимости генетических детерминант, потенциально влияющих на уровень экспрессии гетерологичных генов была проведена с использованием транзиентной экспрессии и сконструированных модульных векторов. Показано, что оптимальное окружение инициирующего кодона, размер и состав 5'-нетранслируемой области, а также кодоновый состав гетерологичного гена вносят значимый вклад в увеличение эффективности экспрессии гетерологичных генов в растениях.

Таким образом, нами продемонстрировано, что разработанное программное обеспечение позволяет выявлять фундаментальные закономерности, влияющих на профиль экспрессии гена, на основе данных анализа их последовательности с последовательностями генов, имеющих сходные функции.

ОРГАНИЧЕСКИЕ КИСЛОТЫ МИКРОМИЦЕТОВ: АДАПТИВНОЕ ЗНАЧЕНИЕ И РОЛЬ В ТРАНСФОРМАЦИИ МЕТАЛЛОВ

Organic acids of micromycetes: adaptive significance and role in the transformation of metals

Сазанова К.В[1,2]., Осмоловская Н.Г[1]., Щипарев С.М[1].

[1] *Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*

[2] *Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург, Россия; barinova-kv@mail.ru*

Обмен органических кислот – одно из важнейших звеньев метаболизма живых организмов. У растений органические кислоты накапливаются в основном в вакуолях, а грибы, как правило, выделяют их во внешнюю среду. Ацидофикация имеет огромное значение в биогеоценозах. Среди экологических факторов, с которыми грибы взаимодействуют в естественной среде обитания и на урбанизированных территориях одним из наиболее значимых является воздействие металлов, в высоких концентрациях проявляющих токсические свойства. Цель данной работы – выявить закономерности образования и функциональную роль органических кислот грибов при адаптации к цинку и меди.

Опыты проводились с использованием двух модельных объектов *A. niger* и *P. citrinum*. Для культивирования использовали питательные среды, различающиеся по источнику азота и концентрации сахаров: нитратная среда Чапека ($NaNO_3$ – 3,0; глюкоза – 30,0 г/л) и нитрат-аммонийная среда Роллена (NH_4NO_3 – 3,0; глюкоза – 50,0 г/л). Металлы вносили в среду в форме сульфатных солей $ZnSO_4$ $7H_2O$ и $CuSO_4$ 5 H_2O. Исследование микроморфологии культур, а также продуктов кристаллизации металлов проводилось методами световой микроскопии с использованием микроскопа Axio Scope A1 (Германия) и сканирующей электронной микроскопии на приборе Tescan MIRA3 LMU 8 (Чехия). Анализ продуцируемых грибами в среду кислот проводили методом ГХ-МС на приборе Agilent с масс-селективным детектором 5975C (США).

На ростовые характеристики грибов металлы влияли по-разному в зависимости от состава питательной среды. На основании предварительных экспериментов были выбраны концентрации металлов 500 мкМ/л для Cu и 2 мМ/л для Zn. На среде Чапека металлы в выбранных концентрациях подавляли рост микромицетов на 15-30% в зависимости от вида объекта и не оказывали существенного влияния на характер роста гиф грибов. При культивировании грибов *A. niger* и *P. citrinum* на среде Чапека с добавлением цинка на гифах, а также в среде происходило формирование цинксодержащих кристаллов. У *A. niger* они были идентифицированы как двуводные оксалаты цинка. На средах с внесением меди Cu-содержащих кристаллов ни у одного из видов обнаружено не было. На среде Роллена замедление роста при этих концентрациях металлов достигало 47% у *A. niger* и 50% у *P. citrinum* и сопровождалось значительными нарушениям в характере роста мицелия: в культуре наблюдалось формирование «гигантских» клеток, часто составляющих большую часть мицелия.

Нитратная среда Чапека была более благоприятна для образования органических кислот, чем нитрат-аммонийная среда Роллена. Так, на жидкой среде Чапека количество щавелевой кислоты, образованной грибами, на 10-е сут роста достигало 60 мг/г мицелия у *A. niger* и 25 мг/г мицелия у *P. citrinum*, тогда как на среде Роллена оно составляло менее 1 мг/г мицелия у обоих видов. При воздействии цинка на нитратной среде Чапека наблюдалось увеличение продукции щавелевой кислоты грибами на 30-35% по сравнению с контролем. В то же время, образование глюконовой, янтарной и лимонной кислот, которое имело место в контроле, в присутствии Zn полностью подавлялось. При внесении меди в концентрации 0,5 мМ на нитратной среде содержание щавелевой кислоты в культуральной жидкости микромицетов, напротив, существенно снижалось по отношению к контролю (в 3-5 раз).

Путем последовательного пересева *P.citrinum* на среды с концентрациями Cu от 25 до 500 мкМ в течение одного года была получена Cu-адаптированная культура, рост которой не ингибировался под действием меди в концентрации 500 мкМ. У данной культуры количество органических кислот, выделяемых при внесении меди (500 мкМ), достоверно не отличалось от их количества в контроле. Однако в сравнении с исходными культурами количество оксалата было более чем в два раза выше у Cu-адаптированного штамма. Скорее всего, продукция оксалата также является важным способом защиты от высоких концентраций меди, но вследствие большей токсичности этого металла, его влияние на образование щавелевой кислоты реализуется значительно медленнее, но закрепляется на уровне штамма.

На нитрат-аммонийной среде под действием цинка и меди не происходило достоверно значимого усиления продукции щавелевой кислоты и других органических кислот. Таким образом, можно заключить, что при воздействии металлов в токсичных концентрациях продукция щавелевой кислоты увеличивается только в условиях, благоприятствующих ее образованию, т.е. на фоне нитратных источников азота. Кислотопродуцирующая деятельность грибов способствует вовлечению металлов в процессы биогеохимической трансформации. Грибы относительно быстро адаптируются к повышенным концентрациям цинка в среде, тогда как адаптация к воздействию меди происходит при меньших концентрациях металла, требует более длительного времени.

Работа выполнена при поддержке РФФИ: гранты 13-04-00843А и 14-04-01795 А.

ОСОБЕННОСТИ СУТОЧНЫХ РИТМОВ ВОДНОГО ОБМЕНА БЕРЕЗЫ ПОВИСЛОЙ И КАРЕЛЬСКОЙ БЕРЕЗЫ

Water relation circadian rhythm features in *Betula pendula* Roth and *Betula pendula* var. *carelica*

Сазонова Т.А., Новичонок Е.В., Тихова Г.П., Придача В.Б.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт леса Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия; alt86@rambler.ru

Исследованиям водного обмена растений разных экологических зон в широком диапазоне факторов среды посвящено множество работ. Однако до сих пор остается открытым вопрос о возможных механизмах регуляции водного обмена на уровне целого растения. В этой связи исследование водного режима древесных растений с аномалиями роста и развития представляется актуальным. Особый интерес для исследователей представляет карельская береза (*Betula pendula* Roth var. *carelica* (Merckl.) Hämet-Ahfi), которую считают экологической формой березы повислой (*Betula pendula* Roth). Для карельской березы отмечают аномальное строение проводящих тканей осевых органов (свилеватость структурных элементов древесины, уменьшение числа сосудов, увеличение количества клеток запасающей паренхимы), которые, вероятно, должны оказывать влияние на водный обмен. Данное предположение требует дополнительных исследований комплекса параметров водообмена деревьев березы повислой с разной степенью выраженности признака узорчатости древесины в широком диапазоне факторов среды. Целью нашей работы было изучение особенностей суточных ритмов показателей водного обмена обычной березы повислой и карельской березы и влияния на эти процессы факторов среды.

Исследования проводили на 3 и 5–летних саженцах обычной березы повислой (*Betula pendula* var. *pendula*) и карельской березы (*Betula pendula* var. c*arelica*), произрастающих на экспериментальных участках Института леса Карельского научного центра РАН (южная Карелия). Измерения водного потенциала (*WP*) облиственных побегов березы проводили с помощью камеры давления Plant Moisture Vessel SKPM 1400 (Skye Instruments Ltd., Великобритания), содержание воды в листьях (WC_f) и дефицит водного насыщения (*WSD*) определяли весовым методом в вегетационной динамике.

Результаты исследования показали совпадение суточного хода водного потенциала облиственных побегов (*WP*) у 3-летних саженцев обычной березы повислой и карельской березы. Среднедневные значения *WP* двух форм березы также были сходными. У 5-летних растений исследуемых берез также отмечали одинаковые значения *WP* в околополуденные часы. Однако в вечерние и утренние часы у карельской березы значения *WP* были менее отрицательными, что, вероятно, свидетельствует о способности этих растений к более быстрому восстановлению водного баланса, по сравнению с березой повислой. Анализ суточного хода дефицита водного насыщения (*WSD*) у 3-летних растений за весь вегетационный период также показал отсутствие различий у двух форм берез. Незначительные различия у растений этого возраста были отмечены только в середине вегетационного периода, что проявилось в более низких значениях *WSD* у карельской березы в утренние и вечерние часы, по сравнению с обычной березой повислой. Однако, как и в случае с *WP*, различия по значениям *WSD* усиливаются с увеличением возраста растений. Факт сходства значений и суточного хода *WP* и *WSD* у 3-летних саженцев и, напротив, появление различий у 5-летних растений может быть связан с усилением узорчатости и степени изменения структуры проводящих тканей в ходе онтогенеза. Более низкие значения *WP* и *WSD* у 5-летних растений карельской березы, вероятно, связаны с наличием у них дополнительного «источника воды» в паренхиме коры. Кроме того, это может быть обусловлено более экономным расходованием влаги карельской березой по сравнению с обычной березой повислой, что подтверждается более высокими среднедневными значениями интенсивности транспирации листа у березы повислой по сравнению с карельской березой. Следует отметить, что динамика суточного хода содержания воды в листе (WC_f) была сходна у 3- и 5-летних растений двух форм березы. При этом у карельской березы наблюдали тенденцию к более низким значениям WC_f, что может быть связано с анатомическими особенностями листа.

В результате косинор-анализа была установлена особая роль *WP* в регуляции водного обмена у двух форм березы. Так, *WP* побегов карельской березы является центральным звеном, которое раздельно управляет изменениями двух компонентов всех показателей водного режима: среднесуточным уровнем и амплитудой суточного ритма. Каждый тренд распадается на две автономные составляющие, которые не имеют между собой статистически значимых линейных связей ни внутри одного показателя, ни с каким-либо компонентом другого. В этой связи, *WP* облиственных побегов можно считать определяющим и доминирующим показателем водного режима карельской березы. Напротив, при анализе *WP* побегов обычной березы повислой выявлены множественные взаимозависимости между различными показателями, помимо *WP* побегов, и их трендовыми компонентами (среднесуточные значения и амплитуды суточных ритмов), которые определяют сложную сеть взаимных влияний и не позволяют установить доминирующую роль *WP* побегов в формировании водного режима растения.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (гранты 13-04-00827-а, 14-04-10076-к).

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ХОЗЯЙСТВЕННО-ЦЕННЫХ ПРИЗНАКОВ У СОРТОВ И ЛИНИЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ ТАДЖИКСКОЙ И ЗАРУБЕЖНОЙ СЕЛЕКЦИИ

Productive varieties and lines of common wheat of Tajik and foreign selection under different climatic conditions of cultivation

Саидмурадов Ш.Д., Эшонова З.Ш., Якубова М.М., Юсупов М.Ш.

Центр инновационной биологии и медицины Академии наук Республики Таджикистан, Душанбе, Республика Таджикистан; mukhiba@mail.ru, shavkat_said777@mail.ru

В Центре инновационной биологии и медицины Академии наук Республики Таджикистан создан генетический банк мягкой и твердой пшеницы. Деятельность по сохранению коллекции пшеницы включает пополнение коллекции новыми образцами, поддержание высокой жизнеспособности семян, изучение и выявление среди них источников ценных для селекции признаков и создание доноров. В настоящее время коллекция включает в себя дикие образцы пшеницы из вида Aegilops, местные стародавние и новые сорта, сорта российской и зарубежной селекции, изогенные линии и мутанты. Этот материал имеет особую ценность, так как в нем содержится значительный запас комбинации аллелей генов обуславливающих приспособленность пшеницы к различным почвенно-климатическим условиям и устойчивость к биотическим факторам.

Целью исследований являлось комплексное изучение биологических свойств и хозяйственно ценных признаков коллекционных образцов, поиск источников и создание доноров по скороспелости, устойчивости к болезням, толерантности к стрессовым и неблагоприятным факторам среды.

В качестве объекта исследовании были выбраны сорта мягкой пшеницы таджикской селекции - Ормон ИЭ, Сомони, Навруз, турецкий сорт Супер-пшеница, российский сорт Безостая, дикий местный вид - *Aegilops tauschii*, а также изогенные линии мягкой пшеницы, представленные нам в рамках сотрудничества Институтом цитологии и генетики СО РАН – АНК-26А, АНК-26С, АНК-7А, АНК-7Б, АНК-17В, АНК-15, Н-67.

Основными критериями оценки образцов были продуктивность, скороспелость, устойчивость к полеганию и болезням (желтая, бурая ржавчина, гельминтоспориоз, мучнистая роса). Фенологические наблюдения, учет урожайности и другие хозяйственно ценные признаки проводились в соответствии с методикой ВИР.

Полевые опыты проводились на экспериментальном участке Центра инновационной биологии и медицины АН РТ в г. Душанбе. Площадь делянки составила 1 м^2, норма высева семян - 500 зерен на делянке.

Исследования показали, что среди изучаемых сортов наиболее скороспелыми оказались сорта Зафар и АНК-17В по сравнению с другими сортами пшеницы. Среднеспелыми были сорта Навруз, Ормон ИЭ, Суперпшеница, Сомони. Остальные изучаемые сорта были более позднеспелыми. Устойчивыми к полеганию оказались сорта Сомони, Навруз, Ормон И Э, Супер-пшеница, Безостая и линия АНК 15.

По устойчивости к болезням выделились сорта Ормон, Сомони, Безостая. Слабое поражение желтой ржавчиной наблюдалось у изогенных линий АНК-26А, АНК-26С, АНК-7А, АНК-7Б, Н-67 и Супер-пшеница. Степень поражения составила до 20%. Изогенные линии АНК-17В, и АНК-17А и местные стародавние сорта сильно поражались желтой ржавчиной, степень поражения составила 40-60%.

По урожайности зерна более продуктивными оказались сорта Ормон ИЭ, АНК-15, их урожайность составила 60-65 ц/га. Изогенные линии АНК-17А, АНК-17В, Н-67, сорта Навруз, Сомони, Безостая, Суперпшеница, также дали не плохой результат, урожай зерна составил от 30,5 до 40 ц/га.

Биометрический анализ показал, что большей кустистостью обладают сорта Навруз, Сомони, Ормон И2, Сурхак, Сафедаки Бадахшон, Шухак. Что касается количества зерен в одном колосе, то лучшими образцами в этом отношении оказались АНК-26А, АНК-26С, АНК-7А, Сомони, Супер-пшеница, Ормон, Безостая и Зафар, у которых число зерен в колосе составляло от 50 до 109 шт. Эти же сорта и линии отличались от остальных изученных образцов по большему весу зерен на кусте. По весу 1000 зерен наилучшими образцами являлись АНК-17В, Суперп-шеница, Сомони, Безостая, Сурхак, Сафедаки Бадахшон, Шухак, Зафар, вес 1000 зерен этих образцов составил 40,1–52,0 г.

Таким образом, показано, что для селекционной работы в качестве родительской формы можно использовать раннеспелую линию АНК-17В и высокоурожайные сорт Ормон ИЭ и линия АНК-15.

ОЦЕНКА ВЕРОЯТНОСТИ ПЕРЕКРЕСТНОГО ОПЫЛЕНИЯ У СОРТОВ И ЛИНИЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УСЛОВИЙ ВЫРАЩИВАНИЯ

Estimation of the probability of cross-pollination in varieties and lines of soft wheat depending on growth conditions

Саидмурадов Ш.Д., Якубова М.М., Эшонова З.Ш., Ганизода В.

Центр инновационной биологии и медицины Академии наук Республики Таджикистан, Душанбе, Республика Таджикистан; mukhiba@mail.ru, shavkat_said777@mail.ru

Известно, что у большинства самоопыляющихся культур строение цветка затрудняет перекрестное опыление. Исследования ряда ученыхустановлено перекрестное опылениеу различных зерновых и овощных культур в зависимости от метеорологических условий среды.Обычно при пасмурной влажной погоде у злаков преобладает самоопыление, в то время как при теплой и сухой погоде, низкой влажности воздуха и ярком солнечном освещении у многих из них происходит перекрестное опыление.

Нами проведены исследования по оценке степени перекрестного опыления у различных линий и образцов мягкой пшеницы местной и зарубежной селекции и диких местных видов.В частности, для этого исследования были выбраны 10 сортов мягкой пшеницы местной и зарубежной селекции и 2 диких вида Эгилопса *(Aegilops cylindrical, Aegilops tauschii)*.

Исследования проводились на опытном участке Центра в г. Душанбе. Растения выращивались в смешанных (местный сорт + зарубежный сорта, зарубежный сорт + дикий вид и т.д.) и чистых посевах. Результаты исследований показали, что в во втором и последующих поколениях у различных образцов мягкой пшеницы местных, зарубежных и диких форм не выявлены расщепления и проявления гибридных признаков,все растения (100%) имели исходные родительские признаки. Эти эксперименты показали, что между различными образцами мягкой пшеницы в условиях климата г. Душанбе (Центральный Ботанический сад Таджикистана, высота 800 м н.у.м.) перекрестное опыления не происходит.

Для изучения влияния различных природно-климатических зон (высота над ур. моря) на степень проявления перекрестного опыления у мягкой пшеницы, проведены аналогичные эксперименты в условиях высокогорья на научной станции Сия-Кух (Анзобский перевал, высота 2500 м н.у.м.). Также, в этих условиях, на модельном объекте арабидопсис*(Arabidopsis thaliana)* проведены исследования по определению вероятности свободного перекрестного опыления между мутантными линиями и местными дикими расами, а также степень взаимодействия между ними в фитоценозах.

ПРЕДВАРИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ДИНАМИКИ РОСТА ОДНОЛЕТНИХ ПОБЕГОВ У НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ В СВЯЗИ С ИХ ЗИМОСТОЙКОСТЬЮ В УСЛОВИЯХ ЮГА ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

Preliminary assessment of the dynamics of growth of annual shoots in some species of woody plants in relation to their hardiness in the South of Western Siberia

Сакович Д.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Центральный Сибирский ботанический сад Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия; ruguzv@rambler.ru

Процесс роста является одним из важных механизмов в организме растений. Он является следствием ранее протекающих процессов питания и дыхания. Ростовые процессы включены в адаптационные механизмы, которые отражают норму реакции организма к условиям определенного района интродукции. Такую адаптацию часто в литературе называют модификационной адаптацией. Характер роста побегов достаточно информативный и более простой показатель, чем питание и дыхание, позволяющий понять в вегетационный период дальнейший механизм приспособления организма к температурным параметрам среды в частности к влиянию низких температур и сопутствующих им условий.

Как известно, температурный режим в различных районах имеет свои особенности, что сказывается в период вегетации на ростовых преобразованиях. Не смотря на актуальность изучения зимо- и морозостойкости, простоту изучения роста растений, динамика роста, особенно роста нетрадиционных видов древесных растений в суровых условиях, в современных научных публикациях рассматривается не в должной мере или совсем не учитываются. Это обстоятельство позволило обозначить цель наших исследований: определить характер ростовых процессов у однолетних побегов некоторых древесных видов интродуцентов в условиях юга Западной Сибири. Выявить взаимосвязь роста растений с особенностями температурных изменений в процессе подготовки видов к наступлению неблагоприятных условий. Для достижения поставленной цели мы применили метод математического вычисления первой производной роста.

В связи с этим в 2012-2013 гг. мы провели анализ динамики ростовых процессов 4 экзотических, для Сибири, древесных видов растений: *Laburnum anagyroides* Med,. *Hibiscus syriacus* L., *Exochorda Alberti* Reg., *Cornus mas* L. на базе опытной полевой исследовательской лаборатории «Олеандр» в 35 км от Новосибирска. Взятые нами виды представляют коммерческий интерес как живая изгородь или отдельный элемент в декоративном ландшафте.

Наши исследования показали, что для всех видов характерен период роста в течение 1,5-2,5 месяцев с середины июня по конец августа, начало сентября. Интенсивность роста четко коррелирует со степенью устойчивости видов с увеличением ее слева направо, чем активней рост, тем менее зимостойкий вид: *Hibiscus syriacus - Laburnum anagyroides - Exochorda Alberti - Cornus mas*. Наиболее быстрый рост отмечен у *Hibiscus syriacus.* Взятые нами виды, по предварительным данным, интенсивно начинают расти в III декаде июня. С III декады июня по II декаду июля отмечен наибольший прирост, когда средняя температура составляла 15°С. По литературным данным известно, что указанная температура активизирует рост у исследуемых видов в более южных районах. Надо отметить, что незначительные колебания положительных температур увеличивают скорость роста. Так, в указанные декады максимальный рост в 2012 г. у *Hibiscus syriacus* составил 0,6 мм/сут., *Laburnum anagyroides* - 0,11 мм/сут., *Exochorda Alberti* - 0,1 мм/сут., а *Cornus mas* – рост не отмечен. В 2013 г. рост был более интенсивным: 1,8 мм/сут. - 1,4 мм/сут – 0,9 мм/сут – 0,3 мм/сут., соответственно. Это связано с тем, что в 2012 г. температурные показатели только увеличивались: 15,3°С – 20,8°С – 23,3°С – 26,3°С. В 2013 г. средние декадные температуры колебались 17,5°С – 15,8°С – 20,7°С - 18,5°С - 13,0°С. Надо отметить, что в 2013 г. на колебание температур однолетние побеги изучаемых нами видов отреагировали, в большинстве случаев, двумя волнами роста. Это позволило им на месяц раньше завершить ростовые процессы. Исключение в характере роста составили побеги *Cornus mas.* У данного вида была отмечена одна волна до 0,3мм/сут перед самым завершением роста. Понижение температур приводит к резкому падению роста. Таким «сигналом» после которого происходило снижение ростовой деятельности, в 2012 г. в I декаде сентября была температура 11,0°С, в 2013 г. II декаде августа 20,3°С.

Таким образом, нами было установлено, что интенсивность ростовых процессов напрямую связана со степенью устойчивости у изученных видов. Периодическое изменение положительных температур приводит к сокращению периода вегетации, а повышение температуры - к плавному и затяжному изменению роста. Учитывая то, что периодические волны роста не характерны для видов с высокой степенью устойчивости к низким температурам, надо отметить отсутствие больших всплесков роста у *Exochorda Alberti*, *Cornus mas.* В дальнейшем будет продолжено исследование характера роста с уточнением начала и конца ростовых процессов и их динамики в сравнении с традиционными видами.

ВОЗМОЖНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ РАННИХ СТАДИЙ ФОРМИРОВАНИЯ КОРНЕВОЙ СИСТЕМЫ У ПРОРОСТКОВ КУКУРУЗЫ

Possible mechanisms of the regulation of early root development in maize seedlings

Салмин С.А.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Орловский государственный университет», Орел, Россия; gio2-74@mail.ru

Развитие побеговых систем растений, как известно, подчиняется строгим морфологическим законам. В корневых системах растений наличие подобных закономерностей менее очевидно. Выявить четкие закономерности строения корневых систем взрослых растений обычно уже не удается. Однако возможен поиск закономерностей формирования корневых систем при изучении процесса заложения примордиев боковых корней и ранних стадий развития корней у проростков. Формирование боковых корней является сложным многостадийным процессом важную роль в котором, по-видимому, принадлежит фитогормонам. Имеется много литературных данных относительно механизмов ветвления корней и участия регуляторов роста в этом процессе.

Целью данной работы было изучение ветвления корня в нормальных условиях и механизмов изменения ветвления при действии природных и синтетических ауксинов, 6-бензиламинопурина, абсцизовой кислоты. Выяснение этих проблем необходимо для выявления основных механизмов эндогенной регуляции ветвления корня и понимания возможных пределов регуляции ветвления корней с помощью регуляторов роста.

Работу проводили на корнях проростков кукурузы (*Zea mays* L.) сорта Бено 128. Семена кукурузы выкладывали в эмалированные кюветы на стекло, обернутое влажной фильтровальной бумагой, смоченной водопроводной водой, накрывали вторым стеклом и выдерживали в темном термостате течение двух или трех суток при 27°С. Для дальнейших экспериментов использовали проростки с длиной главного корня 20-30 мм или 50-70мм. Проростки помещали в чашки Петри на фильтровальную бумагу, смоченную дистиллированной водой (контроль), или растворами ИУК, α-НУК, 6-БАП, АБК в дистиллированной воде. На каждую чашку Петри использовали по 10 мл растворов и помещали по 5 проростков. Чашки выдерживались в темном термостате при 27°С. Измеряли линейкой длину корней в течение трех суток. Длину участков главного корня, несущих боковые корни, измеряли через 48 и 72 ч после начала опыта. Подсчитывали число боковых корней в 1-сантиметровых отрезках по длине корня. Вычисляли время развития боковых корней внутри материнского, начиная от возникновения примордия до его выхода из материнского корня (Тб.к.). Для характеристики действия ингибиторов на рост главного корня вычисляли степень ингибирования роста (I) в процентах от контроля.

Результаты исследования позволяют сделать следующие выводы:

1. Изученные вещества не нарушают акропетального порядка заложения боковых корней и примордии развиваются в боковые корни без периода покоя.
2. Время формирования бокового корня внутри материнского не меняется при воздействии всех изученных веществ и не зависит от исходной длины главного корня.
3. Ветвление корней кукурузы обладает высокой устойчивостью экзогенным воздействиям, что не может быть связано только с действием фитогормонов, но и определяется так же детерминированностью инициальных клеток боковых корней в апикальной меристеме корня.
4. Клетки перицикла у кукурузы чувствительны к экзогенным воздействиям в ограниченный период времени.
5. Ауксины влияют на ранние стадии инициации и образования примордиев боковых корней и не влияют на развитие уже сформированных примордиев.
6. Проведенные исследования показали, что существуют не выясненные в настоящее время эндогенные механизмы регуляции ветвления корней.

ОСОБЕННОСТИ ЖЕЛЕЗИСТОГО АППАРАТА ИССОПА ЛЕКАРСТВЕННОГО *(HYSSOPUS OFFICINALIS* L.) В СВЯЗИ С ИНТЕНСИВНОСТЬЮ МАСЛООБРАЗОВАТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА

Glandular apparatus of hyssop *(Hyssopus officinalis* L.) in relation to the oil production

Самединова Л. А.[1], Теплицкая Л.М.[2]

[1] Государственное бюджетное учреждение Республики Крым «Научно исследовательский институт сельского хозяйства Крыма», Симферополь, Россия; liana.samedinova@mail.ru

[2] Таврическая Академия Крымского Федерального Университета им. В.И. Вернадского, Симферополь Россия lmteplitskaya @ukr.net

Иссоп лекарственный *(Hyssopus officinalis* L.*)* - многолетнее эфиромасличное растение семейства Lamiaceae. Высокая стоимость эфирного масла иссопа лекарственного, широкий спектр использования продуктов его переработки, значительный спрос на рынке лекарственных форм и парфюмерно-косметических препаратов диктуют целесообразность проведения комплексных исследований иссопа. Учитывая эволюционную пластичность и полихимизм иссопа необходимы исследования морфологических форм и хемотипов для выделения ценных и продуктивных генотипов в селекционной работе.

Проведены работы по выделению ряда форм отличающихся по содержанию и составу эфирного масла, строению, топографии и плотности распределения железистых структур на единицу площади органа.

В результате проведенных исследований было показано, что изученные формы иссопа лекарственного существенно отличаются по содержанию и компонентному составу эфирного масла. Эти различия четко положительно коррелируют с показателями плотности распределения железистых структур и их величине на различных органах растения. Соотношение железистых образований на органах иссопа лекарственного может быть использовано как критерий отбора высокомасличных форм.

Уровень метаболической активности секреторных клеток железистых структур, который определяется состоянием ядерного аппарата, коррелирует с интенсивность маслообразовательного процесса. Секреторные структуры высокомасличных форм иссопа лекарственного характеризуются увеличением объема ядрышка - накануне активного синтеза эфирного масла, а также высоким ядрышко-ядерным отношением в секреторных клетках железистых структур.

ГЕНЫ *WOX* И *KNOX* В РАЗВИТИИ НЕРЕГУЛЯРНЫХ МЕРИСТЕМ ГОРОХА ПОСЕВНОГО

WOX and *KNOX* genes in the development of irregular meristems of pea

Самородова А.П., Творогова В.Е., Лебедева М.А., Лутова Л.А.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; alena_08_93@mail.ru

Гены *KNOX* и *WOX* кодируют транскрипционные факторы с гомеодоменом, участвующие в развитии растений. На сегодняшний день получено достаточно много данных об их функционировании в апикальных меристемах. ТФ семейства WOX функционируют в организующем центре апикальных меристем и необходимы для поддержания ниш стволовых клеток. Они стимулируют пролиферацию и подавляют дифференцировку стволовых клеток. Наиболее известными генами семейства KNOX являются *STM* и *KNAT1*, которые поддерживают идентичность апикальной меристемы побега (ПАМ).

На настоящее время в нашей лаборатории получен ряд данных об экспрессии генов *WOX* и *KNOX* в нерегулярных меристемах. В частности, обнаружено, что в клубеньках *Medicago truncatula* экспрессируется ген *KNOX3*, а его сверхэкспрессия приводит к формированию структур, похожих на примордии клубеньков, в отсутствие ризобий. Также показано, что ген *WOX5* экспрессируется в клубеньках *Medicago truncatula* и *Pisum sativum* – на самых ранних этапах ген *WOX5* экспрессируется в перицикле напротив тяжа ксилемы, далее экспрессия связана с пролиферирующими клетками примордия клубенька. Экспрессия гена *WOX5* также обнаружена в спонтанных опухолях *Raphanus sativus* в участках, прилегающих к меристематическим зонам. Согласно результатам моей бакалаврской работы, ген *WOX5* также экспрессируется в опухолях *P. sativum*, индуцированных *Agrobacterium tumefaciens,* причем повышенный уровень экспрессии гена *WOX5* выявлен на поздних стадиях развития опухоли (21-28 дпи). Выявленные особенности указывают на существование общих механизмов контроля пролиферации и дифференцировки клеток с участием генов *WOX* и *KNOX* в апикальных меристемах и при развитии специализированного органа – клубенька бобовых растений, а также при развитии аномалий развития.

Полученные данные позволяют предположить, что в развитии нерегулярных меристем, таких как опухоли и клубеньки, участвуют одни и те же транскрипционные факторы WOX и KNOX. Для проверки этой гипотезы мы предполагаем провести сравнительный анализ работы генов *KNOX* и *WOX* в опухолях и клубеньках у *P. sativum*.

Объектом нашего исследования мы выбрали линии гороха с нарушениями в развитии симбиотических клубеньков. Мутанты, не образующие азотфиксирующие клубеньки – *sym9* и суперклубенькообразующие мутанты - *sym29*.

В анализ были взяты некоторые гены *KNOX* (*KNOX4, KNOX5)* и *WOX* (*WOX4, WOX14*) гороха, предположительно участвующие в развитии клубеньков и опухолей. С помощью результатов транскриптома был произведен количественный анализ экспрессии предполагаемых участников развития клубеньков и опухолей у дикого типа и у мутантов гороха с помощью ПЦР в реальном времени.

В настоящее время проводится локальный анализ экспрессии, включающий создание конструкций для анализа активности промоторов исследуемых генов в клубеньках и опухолях у гороха, fusion–конструкций для анализа локализации белковых продуктов исследуемых генов. Также планируется провести анализ функций этих генов: создание конструкций для сверхэкспрессии и РНК-интерференции исследуемых генов, трансформация растений *P. sativum* и анализ полученных трансгенных тканей.

ИЗМЕНЕНИЯ ТРАНСКРИПЦИИ ГЕНОВ ДЕСАТУРАЗ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В ЛИСТЬЯХ РАСТЕНИЙ *ARABIDOPSIS THALIANA* ПРИ АДАПТАЦИИ К ГИПОТЕРМИИ

Transcription of genes encoding main fatty acid desaturases in *Arabidopsis thaliana* leaves at cold adaptation

Селиванов А.А., Астахова Н.В., Алиева Г.П., Мошков И.Е.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; ie.moshkov@mail.ru

Гипотермия – один из основных абиотических факторов окружающей среды. Пониженная температура вызывает изменения в жизнедеятельности растительной клетки, приводящие сначала к ее повреждению, а затем, возможно, и к гибели. Признано, что одним из механизмов, обеспечивающих формирование устойчивости к гипотермии, является поддержание жидкостных свойств мембран. Степень изменения жидкостных свойств мембран в зависимости от температурных колебаний обусловлена соотношением моно-, ди- и полиненасыщенных жирных кислот в составе липидов мембран. Чем выше содержание ненасыщенных жирных кислот в липидах, тем ниже температура фазового перехода липидов мембран из жидкокристаллического состояния в твердый гель. За образование двойных связей в молекулах жирных кислот, входящих в состав липидов мембран, ответственны ферменты десатуразы, которые детально изучены у такого модельного объекта, как *Synechocystis*. Напротив, для высших растений изучение транскрипции генов десатураз при длительном воздействии низких положительных температур ранее не проводилось.

Растения *Arabidopsis thaliana* экотипа Col-0 выращивали в течение 7-8 недель (до фазы полностью сформированной розетки) при 22˚С и 8 ч фотопериоде, после чего подвергали их 5-сут воздействию пониженной температуры 2˚С, то есть проводили их закаливание. Чтобы убедиться, что в течение указанного периода растения оказывались закаленными, их промораживали при температуре от –3˚С до –8˚С в течение суток. После промораживания растения сутки оттаивали при 4˚С, затем определяли степень повреждения мембран по величине выхода электролитов из тканей листьев. После промораживания закаленные и незакаленные растения существенно отличались по выходу электролитов из клеток листьев. Незакаленные растения повреждались уже при –4˚С (выход электролитов 57%), а при температуре –5˚С все эти растения погибали. Закаленные растения после промораживания при температурах вплоть до –6˚С повреждались незначительно (выход электролитов не более 36%), причем растения этой группы, перенесенные в нормальные условиях вегетации, оказались способными проходить полный жизненный цикл вплоть до цветения и формирования семян. Только при температуре –7˚С закаленные растения получали значительные повреждения (выход электролитов 70%) и погибали. Эти данные свидетельствуют о том, что процесс холодовой адаптации, по-видимому, затрагивает мембранные структуры клетки и служат серьезным основанием для исследования липидного состава клеточных мембран и ферментов, ответственных за степень ненасыщенности жирных кислот – десатураз.

Для исследования изменений транскрипции генов десатураз образцы листьев растений *A. thaliana* отбирали ежедневно в течение всего периода закаливания. На данном этапе работы мы исследовали транскрипцию следующих генов десатураз жирных кислот: *ADS2* (кодируемый этим геном белок локализован в эндоплазматическом ретикулуме), *FAD2* (белок, кодируемый этим геном, в эндоплазматическом ретикулуме), *FAD3* (белковый продукт локализован в хлоропластах, а также в эндоплазматическом ретикулуме), *FAD7* (кодируемый белок имеет хлоропластную локализацию). Перечисленные гены кодируют белки, соответственно, десатураз с 9-, 12- и ω3-десатуразной активностью. Из листьев *A. thaliana* при помощи Spectrum Plant Total RNA Kit согласно инструкции производителя выделяли РНК, затем проводили реакцию обратной транскрипции. Полученную кДНК использовали для проведения Real-time ПЦР в амплификаторе АНК-32. В качестве референсного гена был выбран ген *ACT2*.

При длительном воздействии пониженной температуры наблюдалось повышение уровня транскрипции всех указанных генов. Единственное исключение составил ген *FAD3*, для которого не выявлено существенных изменений уровня транскрипции. Интенсивность транскрипции гена *ADS2* возрастала в 14 раз уже на первые сутки воздействия пониженной температуры, и достигала 17-кратного увеличения по сравнению с контрольными растениями на 4-е сутки закаливания. В несколько меньшей степени менялась транскрипция гена *FAD2*: возрастала в 5 раз на 4-е сутки адаптационного периода. В это же время отмечался рост транскрипции гена *FAD7* – в 4,5 раза. Следует подчеркнуть, что в ходе закаливания последовательное проявление изменений транскрипции генов *ADS2*, *FAD2* и *FAD7* соответствует последовательности реакций десатурации жирных кислот липидов, а именно: первой образуется двойная связь в положении 9, продукт этой реакции служит субстратом для последующих реакций с образованием двойных связей в положениях 12 и ω3.

Таким образом, обнаруженный рост транскрипции генов десатураз может вести к увеличению количественного содержания белков десатураз и, как следствие, к росту уровня ненасыщенных жирных кислот в молекулах липидов мембран, обеспечивая закаленным растениям способность сохранять жизнеспособность даже при отрицательной температуре.

РОЛЬ МЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕНОВ *SDH1-1* И *SDH1-2* В ФОРМИРОВАНИИ ИЗОФЕРМЕНТНОГО СОСТАВА СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ ПРИ ПРОРАСТАНИИ СЕМЯН КУКУРУЗЫ

The role of *sdh1-1* and *sdh1-2* gene methylation in the formation of succinate dehydrogenase isoenzyme composition during maize seed germination

Селиванова Н.В., Федорин Д.Н., Епринцев А.Т.

Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия; bc366@bio.vsu.ru

Сукцинатдегидрогеназа (СДГ, КФ 1.3.99.1) занимает уникальное положение в системе метаболических процессов клетки, функционируя одновременно в цикле Кребса и ЭТЦ митохондрий. Кроме того, при прорастании семян СДГ принимает участие в утилизации сукцината, образующегося в результате работы глюконеогенеза. При этом фермент также участвует в поставке субстратов для биосинтетических процессов. Поэтому изучение механизмов регуляции СДГ позволит понять, как осуществляется контроль за переключением клетки с одного метаболического пути на другой, а, соответственно, и выявить возможные способы, которыми клетка регулирует свой гомеостаз. В последнее время активно обсуждается роль эпигенетических факторов в регуляции экспрессии генов. Метилирование генома - один из механизмов эпигенетического контроля за такими процессами, как транскрипция и репликация. В связи с этим, целью данной работы явилось изучение роли метилирования генов *sdh1-1* и *sdh1-2* в формировании изоферментного состава сукцинатдегидрогеназы при прорастании семян кукурузы.

В качестве объектов исследования использовали семена кукурузы *Zea mays* L. сорта Воронежская 76. Динамика активности исследуемого фермента в процессе прорастания семян кукурузы неоднородна: в первые дни прорастания происходило постепенное увеличение скорости функционирования СДГ, которое достигало максимального значения на 5-й день и составляло 0,633 ед./г сырой массы, стабилизируясь после 7-го дня прорастания на уровне 43-45% от максимального значения. Актуальным представляется изучение изоферментного состава данного белка в онтогенезе, что позволит установить функциональную роль отдельных изоформ СДГ при изменении типа основного метаболизма. Электрофоретический анализ изоферментного спектра в полиакриламидном геле при прорастании семян четыре формы СДГ с R_f = 0,19, 0,29, 0,39 и 0,44 на пятый день прорастания. В дальнейшем изоферментный состав СДГ в щитках кукурузы значительно менялся. Так, на седьмой день обнаружили три изоформы СДГ с R_f = 0,19, 0,29 и 0,39, тогда как к девятому дню прорастания изоформы с R_f = 0,19 и 0,44 отсутствовали.

Механизм регуляции образования изоформ СДГ, вероятно, связан с регуляцией экспрессии генов, кодирующих субъединицу А, поэтому актуальным представляется изучение зависимости концентрации мРНК исследуемых генов при прорастании семян кукурузы от уровня метилирования промоторов данных генов. В растениях в первые дни прорастания, когда промоторы практически не метилированы, активно транскрибировались оба гена. Максимальное содержание мРНК для гена *sdh1-1* было обнаружено на пятый день прорастания, а для гена *sdh1-2* – на четвертый. К пятому дню метилирование генов *sdh1-1* и *sdh1-2* достигало 75 и 50% соответственно. Начиная с шестого дня, CG-динуклеотиды, входящие в состав промотора гена *sdh1-1*, были полностью метилированы, что привело к резкому снижению уровня экспрессии гена *sdh1-1* и полному выключению его к десятому дню. В то же время, метилирование CG-динуклеотидов, входящих в состав промотора гена *sdh1-2*, не вызывало его полной инактивации. Уровень экспрессии данного гена на десятый день прорастания составлял 30% от максимального значения.

В начале прорастания семени растительный организм еще не способен фотосинтезировать и может получать энергию только в процессе дыхания. В это время резко активизируются те метаболические процессы, которые обеспечивают мобилизацию запасных веществ семени. В данный период обнаружены активно транскрибируемые гены *sdh1-1* и *sdh1-2* СДГ, обуславливающие максимальную активность четырех изоформ фермента. Мы установили, что данный этап онтогенеза характеризуется низкой степенью метилирования соответствующих промоторов. Однако по мере зеленения (примерно на 5-й день) происходит глубокая физиологическая перестройка - переход с гетеротрофного типа питания на автотрофный, после чего доминирующую роль берет на себя процесс фотосинтеза и функционирование ЦТК значительно снижается. Наблюдаемое практически полное прекращение синтеза мРНК для гена *sdh1-1* на десятый день прорастания, по-видимому, влечет за собой «выключение» синтеза СДГ, что проявляется в резком снижении активности фермента и редукции числа его изоформ. Установлено, что инактивация гена *sdh1-1* в данный период могла быть связана с полным метилированием CG-динуклеотидов, входящих в состав промотора данного гена.

Таким образом, в растительной клетке функционирует несколько изоферментов СДГ, обеспечивающих ее полифункциональность. Обнаруженное нами изменение числа изоформ сукцинатдегидрогеназы при прорастании семян и смене типа питания растения с гетеротрофного на автотрофный может быть связано с изменением степени метилирования CG-динуклеотидов в составе промоторов генов *sdh1-1* и *sdh1-2* субъединицы А СДГ.

ИММУНОЛОКАЛИЗАЦИЯ ЭНДОГЕННОЙ ИУК В КЛЕТКАХ АНДРОКЛИННЫХ ПОЛИЭМБРИОИДОВ ПШЕНИЦЫ

Immunolocalization of endogenous IAA in the cells of androclinic polyembryoids of wheat

Сельдимирова О.А.[1], Титова Г.Е.[2]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Уфимский институт биологии Российской академии наук, Уфа, Россия; seldimirova@anrb.ru*

[2] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия; galina_titova@mail.ru*

Создание экспериментальных систем размножения растений, основанных на культивировании in vitro клеток растений - перспективный подход к изучению различных аспектов морфогенеза растений. Одна из таких систем – андроклиния, биологический феномен которой состоит в переключении программы развития гаплоидных клеток пыльника под действием внешнего стрессового фактора с обычного гаметофитного пути, связанного с образованием пыльцевого зерна, на иной путь – спорофитный, состоящий в формировании гаплоидного растения-регенеранта. При этом клетки реализуют свой морфогенетический потенциал различными путями морфогенеза *in vitro*, в том числе посредством эмбриоидогенеза – формирования зародышеподобных структур. Выявлено два типа андроклинных эмбриоидов: (1) сходных с зиготическими зародышами и (2) с измененным типом полярности и симметрии, имеющих в апикальной части множественные щитки и апикальные меристемы побега (полиэмбриоиды). Считается, что основной фактор, влияющий на формирование симметрии в растениях - градиенты ауксина.

Цель работы состояла в выявлении распределения эндогенной ИУК в полиэмбриоидах пшеницы на ключевых этапах их развития. Объектом исследования послужил сорт яровой мягкой пшеницы Жница. Растения выращивали на экспериментальных участках научного стационара Института биологии Уфимского НЦ РАН (Уфимский район) в 2013-2014 гг. Использовали метод культуры *in vitro* изолированных пыльников пшеницы, метод иммунолокализации фитогормонов, методы светооптических исследований.

Предварительно экспериментально было установлено, что полиэмбриоиды в своем развитии проходят следующие стадии: стадию многоклеточной структуры без признаков гистологической дифференциации и полярной организации (соответствующую стадии проэмбрио зиготического зародыша), стадию формирования апикально-базальной оси полярности (соответствующую глобулярной стадии зиготического зародыша), стадию перехода к органогенезу и стадию органогенеза.

Согласно полученным данным, для всех клеток (за исключением самого внешнего слоя) полиэмбриоидов на стадии многоклеточной структуры характерно равномерное иммуногистохимическое окрашивание. В клетках полиэмбриоидов со сформированной апикально-базальной осью симметрии появляется градиент окрашивания: базальная часть окрашивается более интенсивно, чем апикальная. При этом наибольшая интенсивность иммуногистохимического окрашивания отмечается в клетках дистального участка базальной части (соответствующего суспензору зиготического зародыша) и в клетках участка, расположенного на границе апикальной и базальной части полиэмбриоида (соответствующего зоне инициации апикальной меристемы корня в зиготическом зародыше). Все клетки апикальной части полиэмбриоида (включая эпидермис) окрашиваются равномерно. В момент перехода к органогенезу градиент иммуногистохимического окрашивания клеток полиэмбриоида становится еще более выраженным: наиболее интенсивно окрашиваются клетки дистального участка базальной части полиэмбриоида, клетки зоны инициации апикальной меристемы корня и отходящих от нее формирующихся прокамбиальных тяжей. Клетки апикальной части полиэмбриоида окрашиваются менее интенсивно, при этом интенсивность окрашивания во всех клетках одинакова. Градиент окрашивания клеток апикальной части полиэмбриоида появляется только на начальных этапах органогенеза. Наиболее интенсивное иммуногистохимическое окрашивание обнаруживается в клетках формирующихся щитков, соответствующих им апикальных меристем побегов и клетках кольцевидной системы тяжей прокамбия, отходящих к щиткам и формирующимся апикальным меристемам побегов от апикальной меристемы корня. Такая же картина сохраняется и на более поздних этапах развития.

Полученные данные позволяют предположить, что именно гомогенное распределение ИУК в апикальной части полиэмбриоидов пшеницы при переходе к органогенезу – возможный физиологический механизм инициации множественных органов (по сравнению с половыми зародышами, где перераспределение ИУК с гомогенного на гетерогенное происходит еще до перехода к органогенезу. Получение таких данных представляет несомненный интерес, поскольку позволит внести вклад в решение таких фундаментальных проблем биологии как механизмы становления полярности и симметрии в процессе эмбриогенеза растений, морфологическая природа органов зародыша однодольных растений и эволюционное становление однодольности.

Работа выполнена при частичной поддержке гранта Президента Российской Федерации по программе «Ведущие научные школы России» (2014-2015 гг., № НШ-5282.2014.4).

СОВМЕСТНОЕ ВЛИЯНИЕ ЦИТОДЕФА И ПАРАКВАТА НА ПРОЯВЛЕНИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В РАСТЕНИЯХ ОЗИМОЙ РЖИ

The combined effect of cytodef and paraquat on the oxidative stress events in winter rye plants

Семенова А.С., Корнишина В.А., Лукаткин А.С.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального Образования «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева», Саранск, Республика Мордовия, Россия; alinabio@mail.ru

Известно, что применение гербицидов позволяет получать высокие урожаи, однако данная группа пестицидов способна оказывать негативное влияние на обрабатываемые культуры, даже при небольших отклонениях от норм и сроков их применения. Одним из возможных способов снижения негативного действия гербицидов на возделываемые растения может быть применение регуляторов роста (РР). Однако в литературе мало работ, рассматривающих совместное действие РР и гербицидов на физиологические процессы в растениях. Целью исследования было выяснение концентрационных эффектов обработки семян озимой ржи (*Secale cereale* L.) регулятором роста цитокининового типа цитодефом (1-фенил-3-(1,2,4-триазол-4-ил)мочевина) при действии на растения параквата (метилвиологена) на проявления окислительного стресса, оцениваемого по выходу электролитов, содержанию фотосинтетических пигментов и соотношению сухой/сырой массы растений.

Семена замачивали 8 ч в растворах 10^{-11} – 10^{-7} М/л цитодефа (контроль – в воде, ВК), промывали, проращивали на воде до возраста 3 суток и далее выращивали методом рулонной культуры на среде Кнопа при температуре 22–24°С, 16 ч фотопериоде и освещенности 2000 лк. По достижении растениями возраста 7–10 суток (второй лист) проводили обработку индуктором окислительного стресса паракватом (100 мкМ). Спустя 1, 2 и 3 суток после обработки гербицидом определяли выход электролитов (в % от полного выхода), содержание пигментов и соотношение сухой/сырой массы (через 3 дня после обработки паракватом). Все опыты повторяли 3 раза, в каждом опыте использовали не менее 10 растений каждого варианта.

Обнаружено, что выход электролитов из высечек листьев ржи не изменялся вследствие предобработки разными концентрациями цитодефа, но в вариантах опыта с обработкой паракватом наблюдали различия в зависимости от концентрации РР. Тенденция к снижению выхода электролитов относительно обработанного паракватом контроля была выявлена для групп растений с предобработкой 10^{-11}-10^{-9} М/л цитодефом во все дни измерения. В вариантах с предобработкой семян более высокими концентрациями цитодефа выход электролитов был на уровне обработанного паракватом контроля или несколько выше.

В листьях растений ржи, предобработанных разными концентрациями цитодефа, наблюдали увеличение содержания хлорофилла *a* относительно ВК; зависимость содержания пигмента от концентрации цитодефа представляла собой куполообразную кривую с максимумом при 10^{-9} М/л. Содержание хлорофилла *b* превышало ВК только при концентрации цитодефа 10^{-9} М/л. На содержание каротиноидов предобработка цитодефом не повлияла. После обработки растений паракватом наблюдали резкое снижение содержания фотосинтетических пигментов в листьях, наиболее выраженное через два дня после обработки гербицидом. Предобработка семян цитодефом способствовала поддержанию уровня хлорофиллов и каротиноидов в листьях выше варианта только с обработкой паракватом (во все дни измерений), максимально – в концентрациях 10^{-11} и 10^{-8} М/л.

Предобработка цитодефом не повлияла на соотношение сухой и сырой массы побегов растений ржи, однако снижала его у корней, наиболее значительно при концентрации 10^{-10}–10^{-9} М/л. Обработка растений паракватом приводила к существенному повышению соотношения сухой/сырой массы побегов, что сопровождалось визуальными повреждениями растений (заломы и засыхание кончиков листьев, общее подсыхание листьев). В вариантах с предпосевной обработкой цитодефом и воздействием параквата наблюдали меньшие соотношения сухой/сырой массы побегов и визуально наблюдаемые повреждения. Наиболее близким к исходному соотношению сухой/сырой массы побегов оказался вариант с предобработкой РР в концентрации 10^{-10} М/л. Обработка гербицидом вызывала снижение соотношения сухой/сырой массы корней в контрольном варианте (без предобработки РР), но не оказала значительного влияния в вариантах с обработкой цитодефом.

Таким образом, при обработке семян озимой ржи препаратом цитодеф наблюдали тенденцию к снижению проявлений окислительного стресса, вызванного гербицидом паракват, что проявилось в меньшем выходе электролитов, более высоком уровне фотосинтетических пигментов и более низком соотношении сухой/сырой массы (большая оводненность тканей). Эти эффекты в значительной степени зависели от использованных концентраций цитодефа; лучшие в защитном плане концентрации – 10^{-10}-10^{-9} М/л.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки России (проект № 6.783.2014К)

КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА ВОДООБМЕНА ХВОИ ЕЛИ (*PICEA OBOVATA* LEDEB.) В ЕЛЬНИКЕ ЧЕРНИЧНОМ РЕСПУБЛИКИ КОМИ

Comprehtnsive assessment of water relations in needles of spruce (*Picea obovata* Ledeb.) in bilberry spruce forest in the Republic of Komi

Сенькина С.Н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Коми научного центра Российской академии наук, Сыктывкар, Россия; senkina@ib.komisc.ru

Еловые леса Республики Коми занимают 51% лесопокрытой площади. Зеленомошная группа типов, к которым относятся ельники черничные, составляет 47,6% площади еловых лесов средней тайги. Устойчивость лесных фитоценозов на Севере во многом определяется динамикой физиологических процессов, в том числе водообмена, который играет существенную роль в формировании древостоев таежной зоны и в значительной степени определяет их биологическую продуктивность. Водный обмен в свою очередь обусловливается биологическими и анатомическими особенностями растений и существенно зависит от влияния экологических факторов.

Комплексная оценка водного режима хвои ели (*Picea obovata*) в еловом древостое черничного типа включает в себя определение таких показателей как интенсивность транспирации, обводненность, водный дефицит и водный потенциал хвои в сезонной и суточной динамике. Исследования осуществлялись на базе Ляльского стационара в Княжпогостском районе Республики Коми (62°17` с.ш. и 50°40` в.д.).

Транспирация очень лабильный процесс. Интенсивность ее в разные годы колеблется от 2 до 14 ммоль $м^{-2}с^{-1}$. Отмечено, что интенсивность транспирации выше в теплые годы с небольшим количеством осадков и ниже в теплые, но влажные годы. У хвои ели изменения интенсивности транспирации в течение вегетационного периода не ярко выражены, разница составляет от 1 до 2 ммоль $м^{-2}с^{-1}$. В условиях достаточной почвенной влагообеспеченности, каким является район исследования, транспирация регулируется в основном факторами фитоклимата. Для хвои ели характерна более тесная зависимость данного процесса от температуры воздуха, коэффициент корреляции составляет порядка 0,7-0,8. В год, когда вегетационный период был очень дождливым, отмечалась более плотная зависимость транспирации от солнечной радиации.

Суточная кривая интенсивности транспирации может быть одновершинной, но может иметь и несколько пиков. В большинстве случаев максимальные значения интенсивности транспирации хвои ели приходятся на период с 10 до 15 ч, но в отдельные дни максимумы интенсивности процесса могут смещаться на утренние и вечерние часы. Анализ суточных данных показал, что большое значение на перемещение максимумов интенсивности оказывает резкое снижение освещенности и влажности воздуха, но еще большее влияние оказывает высокое устьичное сопротивление, так как хвоя ели обладает высокой скоростью реакции устьичного аппарата, измеряемую секундами. В июне, июле нами не было отмечено полного прекращения транспирации в течение суток даже в ночные часы.

Оводненность двухлетней хвои ели достаточно стабильна в течение вегетационного сезона (52-54%). В разные годы исследований она также держится в этих пределах. Молодая хвоя текущего года более обводнена особенно в начале вегетации, величина ее колеблется от 60 до 72%. В целом, оводненность хвои текущего года всего на 1-3% меньше ее полной влагоемкости, второго года – на 2-4%. Водный дефицит более изменчивая величина. В перезимовавшей хвое он варьирует от 8 до 14%, а в разные годы исследований от 7 до 11%, в хвое текущего года он ниже – 3-9%. Наибольший дефицит влаги наблюдается в начале вегетационного периода. Водный потенциал хвои как первого, так и второго года жизни в течение вегетации во все годы исследований варьировал в очень небольших пределах – -1...-2 МПа, что далеко от известных критических величин данного показателя - -5 - -6 МПа.

Результаты комплексного анализа водного режима хвои ели в ельнике черничном средней подзоны тайги показали, что ель не испытывает недостатка влаги в течение периода вегетации. Оводненность хвои близка к значениям полной влагоемкости, а водный дефицит и водный потенциал имеют значения далекие от критических. Установлено, что вариабельность интенсивности транспирации в значительной степени зависит от устьичного сопротивления, а также от климатических факторов, в основном температуры и влажности воздуха, активности солнечной радиации.

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ БИОСИНТЕЗА ЦИТОКИНИНОВ У ipt-ТРАНСФОРМАНТОВ ФОТОТРОФНЫХ ПУРПУРНЫХ БАКТЕРИЙ, КУЛЬТИВИРУЕМЫХ В ТЕМНОТЕ И НА СВЕТУ

Expression of cytokinin biosynhesis genes in ipt-transformants of phototrophic purple bacteria cultivated in the dark and in the light

Сердюк О.П.[1], СмолыгинаЛ.Д.[1], Ширшикова Г.Н.[1], Чекунова Е.М.[2]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт фундаментальных проблем биологии, Пущино, Россия; serdyuko@rambler.ru*

[2] *Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*

Фототрофные пурпурные бактерии (ФПБ) являются наиболее древними среди всех известных фотосинтезирующих организмов. ФПБ часто используются как модельные системы в исследованиях фотосинтеза, благодаря сходству этого процесса у них и эукариотических организмов. С этой же целью ФПБ были использованы нами в исследованиях влияния эндогенных цитокининов на различные физиологические процессы, протекающие в клетках этих бактерий.

ФПБ филогенетически очень разнообразны и в соответствии с анализом нуклеотидных последовательностей 16s rRNA были отнесены к α-, β- и γ- группам. По этому признаку ФПБ *Rhodobacter sphaeroides* и *Rhodopseudomonas palustris*, включенные в α – филогенетическую группу эубактерий, оказались более близкими родственниками с ризобиальными и агробактериями, чем с другими ФПБ. Однако в ФПБ *Rhodospirillum rubrum, Rhodobacter sphaeroides*, геномы которых полностью секвенированы, гены биосинтеза цитокининов обнаружены не были. Поэтому в наших исследованиях были использованы бактерии *Rhodopseudomonas palustris* и *Rhodobacter sphaeroides*, трансформированные бинарным вектором pGA 482, несущим ген биосинтеза цитокининов ipt.

У ipt-трансформантов *Rhodopseudomonas palustris* были обнаружены изменения в биосинтезе фотосинтезирующих пигментов, соотношении фотосинтезирующих пигмент-белковых комплексов, в форме колоний. Последнее могло свидетельствовать об изменении хемотипа этой бактерии. Кроме того, у трансформантов *Rhodopseudomonas palustris* и *Rhodobacter sphaeroides* методами электронной и атомно-силовой микроскопии наблюдали изменения в структуре внешней мембраны клеточной стенки, основными компонентами которой являются полисахариды, экспонированные наружу и называемые О-антигенами. Изменения в качественном и количественном составе полисахаридов и хемотипа *Rhodobacter sphaeroides* были подтверждены в дальнейшем биохимическими методами, а также при окрашиванием поверхностных полисахаридов калькофлуором.

Исследования свойств ipt-трансформантов *Rhodobacter sphaeroides* и *Rhodopseudomonas palustris* выполнялись на клетках, выращенных в темноте и на свету. Методом ОТ-ПЦР было показано, что гены биосинтеза цитокининов экспрессируются в клетках, выращенных как в световых, так и темновых условиях. Это может свидетельствовать о том, что физиологические изменения, наблюдаемые у ipt-трансформантов ФПБ, вызываются цитокининами, синтезируемыми этими бактериями и обнаруженными нами среди экзометаболитов.

СОДЕРЖАНИЕ СУММАРНЫХ ЛИПИДОВ В МУЖСКИХ СОЦВЕТИЯХ БЕРЕЗЫ ПОВИСЛОЙ *BETULA PENDULA* ROTH В ВЕСЕННИЙ ПЕРИОД

The content of total lipids in male catkins of *Betula pendula* Roth in spring

Серебрякова О.С., Ветчинникова Л.В., Ильинова М.К.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт леса Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия; vetchin@krc.karelia.ru

В процессе формирования репродуктивных органов, как известно, происходят значительные изменения в обмене веществ, которые активно изучаются на травянистых и плодовых растениях. Древесные породы, цветение которых осуществляется в весенний период при среднесуточной температуре воздуха выше +5°С, в этом плане практически не изучены.

Целью работы было изучение динамики содержания суммарных липидов и их жирнокислотного состава в мужских соцветиях березы повислой *Betula pendula* Roth, произрастающей в условиях южной части Республики Карелия (Северо-Запад Российской Федерации).

Объектом исследования явились мужские соцветия березы повислой, сбор которых осуществляли в соответствии с фазами их весеннего развития (Кайгородова, 1975): «освобождение» от наружного покрова (I декада мая), «разрыхление» (II декада мая), «вскрывание» пыльников (III декада мая). Экстракцию липидов осуществляли смесью хлороформа и метанола в соотношении 2:1. Жирные кислоты разделяли на газожидкостном хроматографе «Хроматэк – Кристалл-5000» (Россия). Коэффициент ненасыщенности (К) жирных кислот определяли как соотношение сумм ненасыщенных и насыщенных жирных кислот, индекс двойной связи (ИДС): ИДС = М+2×Д+3×Тр/100, где М - моноеновые, Д - диеновые, Тр - триеновые.

Результаты исследований показали, что в весенний период содержание суммарных липидов в мужских соцветиях березы повислой изменялось в зависимости от фазы их развития. В частности, наименьшая концентрация суммарных липидов (116,0 мг/г сухого вещества) была зафиксирована в период «освобождения» мужских соцветий от наружных покровов. Затем, к моменту «разрыхления» их количество увеличилось в 1,5 раза, а после «вскрывания» пыльников - вновь снижалось (до 136,5 мг/г сухого вещества).

Изучение жирнокислотного состава показало, что суммарные липиды мужских соцветий березы повислой были представлены не более чем 12 компонентами с числом углеродных атомов от 16 до 22. Основной уровень насыщенных жирных кислот в суммарных липидах определяла пальмитиновая кислота ($C_{16:0}$), которая составила более 30% от суммы жирных кислот. Доля арахиновой ($C_{20:0}$) и бегеновой ($C_{22:0}$) кислот было существенно ниже (в среднем около 11% от суммы жирных кислот). Практически во все изученные фазы развития мужских соцветий насыщенные жирные кислоты (около 66% от суммы жирных кислот) преобладали над ненасыщенными, за исключением фазы – «освобождения» от наружных покровов, когда наблюдалась обратная картина: доля ненасыщенных была выше насыщенных почти в 1,5 раза. Эти данные коррелируют с жирнокислотным составом липидов зрелой пыльцы (Ветчинникова и др., 2012), содержащейся в мужских соцветиях в весенний период. В суммарных липидах накапливались преимущественно диеновые (до 24% от суммы жирных кислот) и триеновые (около 14% от суммы жирных кислот). Моноеновые жирные кислоты (в основном олеиновая) присутствовали в липидах на всех этапах развития мужских соцветий, но их количество было значительно ниже по сравнению с диеновыми и триеновыми. Значения К и ИДС заметно уменьшались от начала активного развития соцветий до «вскрывания» пыльников, что, вероятно, обусловлено заметным повышением среднесуточных температур воздуха.

Таким образом, весной мужские соцветия березы повислой характеризовались высоким содержанием суммарных липидов, представленных как насыщенными жирными кислотами (в основном пальмитиновой), так и ненасыщенными (преимущественно диеновыми). По мере созревания пыльцы и ее высыпания из мужских соцветий происходило увеличение насыщенности жирных кислот, что, по всей вероятности, обусловлено физиологическими особенностями микрогаметофита в период весеннего развития.

Работа выполнена в рамках государственного задания ИЛ КарНЦ РАН, а также при частичной финансовой поддержке Программы фундаментальных исследований Отделения биологических наук РАН «Биологические ресурсы России: динамика в условиях глобальных климатических и антропогенных воздействий» (№ ГР 01201257414).

ВОЗДЕЙСТВИЕ ПЕРЕМЕННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ УМЕНЬШАЕТ ИНГИБИРОВАНИЕ МЕТАБОЛИЗМА РАСТЕНИЙ ГОРОХА ПРИ ПОСЛЕДУЮЩЕЙ ГИПЕРТЕРМИИ?

Does alternating magnetic field decrease the subsequent hyperthermia-caused inhibition of the pea plants metabolism?

Середнева Я.В., Корнилова Ю.В., Синицына Ю.В., Веселов А.П.

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия
jsin@inbox.ru , veselov-ap@ya.ru

Низкочастотные переменные магнитные поля (до 100 Гц) – это фактор антропогенной среды, сопровождающий растительное, животное, микробиологическое сообщество в течение всей жизни его представителей. В силу противоречивости результатов исследований влияния таких магнитных полей на живые организмы, в научном сообществе имеются как сторонники точки зрения о существенном влиянии магнитных полей на метаболизм, так и скептики, полагающие энергию низкочастотных переменных магнитных полей слишком малой для реализации биологических эффектов. Тем не менее, магнитные физиотерапевтические процедуры широко используются для лечения некоторых острых и хронических заболеваний человека, в некоторых сельскохозяйственных предприятиях практикуют предпосевную обработку семян различными магнитными полями. Предполагаем, что низкочастотные переменные магнитные поля, не вызывая значимых метаболических перестроек в организме, тем не менее, могут корректировать последствия стрессовых воздействий, причем механизм такой коррекции, по-видимому, связан с изменениями функционального состояния клеточных мембран. В связи с этим, целью данного исследования была проверка защитного эффекта низкочастотного магнитного поля перед воздействием высокой температуры. Гипертермия от 42°С и выше является стрессирующим фактором для растений, в результате действия которого происходит замедление важнейших физиологических функций: фотосинтеза, дыхания, минерального питания и др. на фоне интенсификации окислительных процессов. В серии предварительных экспериментов были подобраны режимы тепловой обработки растений, вызывавшие статистически значимые изменения интересующего параметра, но не приводившие к гибели растений (температура от от 38°С до 50°С; экспозиции - от 1 до 30 минут). Объектом исследования служили 9-14-дневные растения гороха *Pisum sativum* L., с. Альбумен, выращенные в климатической камере при температуре 23°С и 16 ч фотопериоде. Для генерации переменного магнитного поля (ПеМП) использовалась магнитотерапевтическая установка VL-2 ("ElectroBiology", США). Поле создавалось пачками из 20 импульсов длительностью 227 мкс с амплитудой 1,5 мТл, следующих с частотой 15 Гц; длительность обработки 0,5-2 ч. Анализировали следующие группы растений: 1) гипертермия; 2) магнитное поле; 3) магнитное поле + гипертермия (последовательно); 4) контроль (без воздействий). Определяли ростовые параметры проростков, скорость реакции Хилла по скорости восстановления феррицианида калия, содержание суммы гидропероксидов методом FOX, параметры флуоресценции хлорофилла (коэффициенты фотохимического и нефотохимического тушения, эффективный квантовый выход фотосистем 1 и 2. Показано, что обработка только магнитным полем слабо влияла на исследуемые параметры: не изменялась длина как надземной, так и подземной частей проростков, скорость реакции Хилла, параметры флуоресценции хлорофилла, было зафиксировано лишь снижение количества гидропероксидов на 20% по сравнению с контрольными образцами. Гипертермия статистически значимо подавляла реакцию Хилла (на 50%), рост надземной части (на 88%), уменьшала фотохимическое, но увеличивала нефотохимическое тушение флуоресценции, повышала содержание гидропероксидов на 15% по сравнению с контролем. Предваряющая гипертермию обработка магнитным полем полностью нормализовала либо снижала степень метаболических нарушений: скорость реакции Хилла оказалась ниже контроля лишь на 20%, длина растений уступала контрольным на 19%, нормализовалась работа фотосистем и цепи электронного транспорта, предотвращалось накопление гидропероксидов, их содержание оказалось даже ниже контроля на 9%.

Таким образом, несмотря на видимое отсутствие магнитобиологических эффектов на уровне как отдельных физическо-химических процессов клетки (процесс фотосинтеза), так и целого организма (ростовые реакции) нельзя результаты однозначно интерпретировать как полное отсутствие влияния низкочастотных переменных магнитных полей на организм растения. Более адекватный ответ на этот вопрос можно дать после оценки метаболических изменений, индуцированных последующим стрессовым воздействием. Предадаптирующий эффект обработки магнитным полем, вероятно, реализуется через подавление развития окислительного стресса в клетках растений, однако не является примером кросс-устойчивости. Обнаруженный предадаптирующий эффект указывает на наличие единых либо сходных механизмов воздействия на клетки таких разных физических факторов, как гипертермия и переменное магнитное поле.

Отработка метода анализа теплоустойчивости гороха по подавлению ростовых процессов и определение теплоустойчивости в контроле выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 14-26-00098); исследования фотосинтетической активности поддержаны проектом №2575 Задания № 2014/134 на выполнение государственных работ в сфере деятельности в рамках базовой части государственного задания.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СТАРЕНИЯ СИМБИОТИЧЕСКИХ КЛУБЕНЬКОВ ГОРОХА (*PISUM SATIVUM* L.)

Molecular-genetic analysis of senescence of pea (*Pisum sativum* L.) symbiotic nodules

Серова Т.А., Цыганов В.Е.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия
t_serova@rambler.ru

В последнее время интенсивно изучаются молекулярно-генетические и клеточные механизмы, лежащие в основе реализации программы старения симбиотического клубенька, детальное знание которых позволит приступить к практическому созданию сортов бобовых растений с увеличением периода активной фиксации азота, что могло бы оказать положительный эффект на насыщение почвы биологическим азотом и повышение урожайности возделываемых культур.

В работе была использована серия симбиотических мутантов гороха (*Pisum sativum* L.), полученных на основе родительской линии SGE. Линия SGEFix$^-$-1 (*sym40*), характеризуется формированием гипертрофированных инфекционных нитей и капель, следствием чего является массовый выход бактерий и нарушения в дифференцировке бактероидов; мутанты SGEFix$^-$-3 (*sym26*) и SGEFix$^-$-7 (*sym27*) блокированы на стадии поддержания структурной и функциональной стабильности клубенька. Исследуемые мутантные линии характеризуются преждевременной деградацией симбиотических структур – преждевременным старением клубеньков.

В качестве маркерных «генов старения» были выбраны гены цистеиновых протеаз (*PsCyp1, PsCyp15a*) и тиоловой протеазы (*PsTPP*), продукты которых участвуют в масштабной деградации белка; ген фактора транскрипции bZIP (*PsATB2*), экспрессия ортолога которого повышается у *Medicago truncatula* в ходе старения клубенька; ген гиббереллин 2-β-оксидазы (*PsGAOx2*), деактивирующей гиббереллиновую кислоту; гены 1-аминоциклопропан-1-карбоксилат синтетазы и оксидазы (*PsACS2, PsACO1*), кодирующие ферменты синтеза этилена; ген альдегид оксидазы 3 (*PsAO3*), продуктом которого является фермент синтеза абсцизовой кислоты.

С помощью ПЦР в режиме реального времени было показано повышение экспрессии выбранных «генов старения» с увеличением возраста клубеньков родительской и мутантных линий гороха. В рано стареющих клубеньках мутантов на четвертой неделе после инокуляции, соответствующей пику азотфиксации у исходной линии, уровень транскриптов анализируемых генов был значительно выше по сравнению с родительской линией SGE, уровень мРНК «генов старения» в которой значительно повышался только к шестой неделе развития клубеньков. Уровень экспрессии генов *PsCyp1, PsCyp15a, PsAO3, PsACS2* и *PsACO1* был выше в мутантных линиях SGEFix$^-$-1 (*sym40*) и SGEFix$^-$-7 (*sym27*) по сравнению с SGEFix$^-$-3 (*sym26*).

Для выявления тканевой и клеточной специфичности был проведен анализ экспрессии маркерных «генов старения» в инфицированных клетках с признаками старения и без таковых. С помощью лазерной микродиссекции были вырезаны инфицированные клетки зоны азотфиксации 2-х и 4-х недельных клубеньков, а также инфицированные клетки зоны старения 4-х недельных клубеньков линии SGE. Было показано повышение уровня экспрессии *PsCyp15a*, *PsTPP, PsATB2, PsGAOx2, PsAO3* и *PsACO1* генов с увеличением степени деградации клеток клубенька. При этом транскрипты *PsCyp1* гена не были детектированы, а содержание мРНК гена фермента синтеза предшественника этилена (*PsACS2)* снижалось при старении клеток симбиотического клубенька.

Таким образом, показана позитивная регуляция процесса старения симбиотического клубенька гороха этиленом, абсцизовой кислотой и транскрипционным фактором *PsATB2*, негативная регуляция гиббереллиновой кислотой, а также активная роль в старении цистеиновых и тиоловой протеаз.

Работа поддержана грантами Президента РФ (НШ-4603.2014.4) и РФФИ (14-04-00383).

ВОДОПРОНИЦАЕМОСТЬ МЕМБРАН КЛЕТОК КОРНЕЙ КУКУРУЗЫ ПРИ ДВУХ УРОВНЯХ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА

Membrane water permeability of maize root cells under two levels of oxidative stress

Сибгатуллин Т.А., Белова Л.П., Ионенко И.Ф., Великанов Г.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук, Казань, Россия; timsdance@mail.ru

Новый виток интереса к трансмембранному переносу воды в растительных клетках последовал за открытием аквапоринов – интегральных белков, способных регулировать пассивный перенос воды и электронейтральных малых молекул. С каждым годом этот интерес подогревается все больше, так как в регуляцию активности аквапоринов вовлечены различные механизмы, что позволяет аквапоринам участвовать во многих процессах развития растения и его адаптации к изменениям внешней среды.

В ряде работ показано, что при большинстве стрессовых состояний изменяется проницаемость мембран растительных клеток. Наряду с этим, один из самых ранних ответов при любом биотическом или абиотическом стрессе – это накопление активных форм кислорода (АФК) в клетке. Возникает вопрос, как взаимосвязаны эти эффекты?

Цель работы: изучить участие аквапоринов в изменениях водной проницаемости мембран при двух уровнях окислительного стресса.

Проведено исследование суммарной водной проницаемости мембран клетки в условиях окислительного стресса при заведомо различных уровнях АФК. Объектом исследования были корни 5-дневных проростков кукурузы. В качестве индукторов АФК применялось в первом случае – отсечение корня, приводящее к развитию раневого стресса, во втором случае – дополнительно к отсечению использовали паракват. Исследована динамика развития окислительного стресса в течение 6 часов. Основной измеряемый параметр в исследовании – диффузионная водная проницаемость мембран – определялся с помощью метода ЯМР-диффузометрии. С целью определить вклад аквапоринов в наблюдаемые изменения проницаемости применяли блокатор аквапоринов – хлорид ртути. При обсуждении вопроса о влиянии окислительного стресса и АФК на функциональную активность аквапоринов внимание акцентировано на редокс-статусе тиоловых групп аквапоринов. Для проверки участия тиоловых групп в регуляции проводимости аквапоринов использовали восстановитель дисульфидных связей - дитиотриетол.

В качестве основного показателя для оценки уровня окислительного стресса определяли уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) по содержанию малонового диальдегида. Использованные условия проведения опыта существенно различаются по уровню стресса. Если при раневом стрессе антиоксидантная система, по-видимому, справляется, препятствуя ПОЛ, то во 2-ом случае дополнительное индуцирование АФК приводит к увеличению уровня ПОЛ.

Обнаружено, что увеличение диффузионной водной проницаемости мембран при раневом стрессе обусловлено активацией аквапоринов. При этом проницаемость липидного бислоя с течением времени практически не изменяется. Показано, что основной механизм активации аквапоринов при раневом стрессе заключается в окислении тиоловых групп аквапоринов. При дополнительной индукции АФК с помощью параквата меняется направленность изменения диффузионной проницаемости аквапоринов, что свидетельствует о подключении других – непрямых механизмов их регуляции. Таким образом, направленность изменения диффузионной водной проницаемости мембран зависит от уровня окислительного стресса.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 14-04-31606 и 13-04-01203.

ПОЗИЦИОННО-ВИДОВОЙ СОСТАВ ТРИАЦИЛГЛИЦЕРИНОВ ПРИСЕМЯННИКОВ ПЛОДОВ ДВУХ ВИДОВ БЕРЕСКЛЕТОВ (*EUONYMUS MAAKI* И *E. JAPONICUS)*

Positional-species composition of triacylglycerols from fruit arils of two *Euonymus* species (*E. maaki* and *E. japonicus)*

Сидоров Р.А., Жуков А.В., Пчелкин В.П., Цыдендамбаев В.Д.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; vdt@ippras.ru

Наибольшее число видов рода Бересклет (*Euonymus* L.), который составляют кустарниковые или древесные растения, встречается в Азии (115 видов, около 90% всех видов). Виды рода *Euonymus* принадлежат к группе растений с сочными масличными внесеменными частями плода, которые накапливают масло не только в семенах, но и в водонасыщенных внесеменных частях плода (ариллусах, присемянниках), которые резко различаются между собой по составу жирных масел. Ранее нами установлен состав нейтральных ацилглицеринов жирных кислот (ЖК) масел присемянников зрелых плодов 14 видов бересклетов, относящихся к обоим подродам рода *Euonymus*. Данная работа посвящена изучению тонкой структуры главного компонента масел - триацилглицеринов (ТАГ) присемянников плодов еще двух видов бересклетов, принадлежащих к секции *Euonymus* - *E. maaki* и *E. japonicus*. В настоящей работе был определен позиционно-видовой состав (ПВС) ТАГ присемянников плодов этих видов.

Для выделения суммы липидов зрелые плоды фиксировали в кипящей воде в течение 1 мин, а затем разделяли на семена и ариллусы. Ариллусы растирали с водой; сумму липидов экстрагировали из гомогената очищенным хлороформом. Для удаления ТАГ с поверхности семян их обрабатывали хлороформом и хлороформные экстракты объединяли. Растворитель отгоняли, остаток растворяли в бензоле и хранили при –20°С. ТАГ отделяли от других нейтральных липидов путем препаративной ТСХ на силикагеле и подвергали липазному гидролизу. Свободные *sn*-1,2-ДАГ выделяли из продуктов реакции посредством ТСХ. Препараты исходных ТАГ и свободных *sn*-1,2-ДАГ подвергали переэтерификации в метаноле. Состав ЖК в ТАГ и *sn*-1,2-ДАГ определяли методом ГЖХ-МС метиловых эфиров ЖК. С целью установления закономерностей количественного распределения главных ЖК в ТАГ ариллусов вычислены средние арифметические величины их концентраций в сумме ТАГ каждого вида бересклета.

Расчет ПВС ТАГ по данным ГЖХ-МС проводили с помощью формул, разработанных ранее (*Верещагин, 1972*). В ТАГ *E. maaki* и *E. japonicus* обнаружены 14 видов ЖК, среди которых всегда преобладали линолевая (Л), олеиновая (О; 9-октадеценовая, 9-О), пальмитиновая (П) и α-линоленовая кислоты, т.е. в присемянниках, обладающих только материнским генотипом, наблюдался вполне обычный состав ТАГ. Между тем ТАГ *E. japonicus* резко отличались от всех остальных ранее исследованных видов секции *Euonymus* высокой концентрацией необычных этерифицированных 5-, 7-, 8- и 9-гексадеценовых кислот (5-Г, 7-Г, 8-Г и 9-Г, соответственно), а также *цис*-вакценовой (7-октадеценовой, В) и, предположительно, 10-октадеценовой (10-О) кислот. В свою очередь, позиционные изомеры гексадеценовой кислоты в ТАГ *E. maaki* были представлены лишь 7-Г, 8-Г и 9-Г, а 5-Г с иным положением олефиновой связи в их составе отсутствовала. В то же время в обоих объектах показано присутствие 5-О и 7-О (1 и 3% в ТАГ *E. japonicus*, а также 3 и 2% в ТАГ *E. maaki*, соответственно).

В отличие от присемянников ТАГ исследованных ранее 14 видов бересклетов а также от ТАГ присемянников *E. maaki*, содержание О в ТАГ присемянников *E. japonicus* было значительно выше, чем уровень Л. В присемянниках *E. maaki* главными молекулярными видами ТАГ, включавших остатки обычных ЖК, были ЛЛП, ПЛП, ОЛП, ОЛЛ, ПЛВ, ЛЛЛ, ПОЛ, ОЛО и ЛЛВ (9.5, 8.0, 8.0, 4.8, 3.5, 2.8, 2.1, 2.0, и 2.1 мол.%, соответственно). Кроме того, в число главных молекулярных видов ТАГ в присемянниках *E. maaki* входили виды ТАГ, которые включали необычные мононенасыщенные ЖК - ПЛ 9-Г, ЛЛ 9-Г, ОЛ 9-Г и ПЛ 8-Г (6.7, 4.0, 3.4 и 2.5 мол.%, соотв.). В заметных количествах в присемянниках *E. maaki* найдены ПО 9-Г, ВЛ 9-Г, ОЛ 8-Г и ЛЛ 8-Г (1.5, 1.5, 1.3 и 1.5 мол.%, соотв.). В свою очередь, в составе главных молекулярных видов ТАГ присемянников *E. japonicus* обнаружены ПОП, ООП, ПЛП, ОЛП, ПОЛ, ООЛ, ПЛЛ и ОЛЛ (8.8, 7.8, 7.2, 6.4, 6.1, 2.7, 5.0 и 2.2 мол.%, соотв.). Вместе с тем уровни ПОВ, ООО, ПЛВ, ОЛО и ЛОЛ составили лишь 1.2, 1.7, 1.0, 1.4 и 1.1 мол.%, соответственно. Помимо индивидуальных видов, включающих обычные ЖК, в число главных ТАГ присемянников *E. japonicus* входили ТАГ, содержавшие либо остатки пальмитолеиновой кислоты (9-Г), либо ее изомеров с иным положением олефиновой связи в ацильной цепи - П 7-ГП, О 7-ГП, ПО 9-Г, ПО 5-Г и ПЛ 9-Г (2.6, 2.3, 3.9, 2.3 и 3.2 мол.%, соответственно).

Таким образом, бересклеты, принадлежащие к разным секциям рода *Euonymus* L., могут резко различаться между собой по качественному и количественному составу индивидуальных видов ненасыщенных ЖК, содержащихся как в среднем, так и в крайних положениях ТАГ их присемянников. Что касается насыщенных ЖК, то в молекулах ТАГ всех этих видов они всегда этерифицируют преимущественно лишь крайние (*sn*-1 и *sn*-3) положения остатка глицерина.

РЕГУЛЯТОРНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ ДЛЯ ТКАНЕСПЕЦИФИЧНОЙ ЭКСПРЕССИИ ТРАНСГЕНОВ В РАСТЕНИЯХ

Regulatory elements for tissue-specific transgene expression in plants

Сидорчук Ю.В.[1], Герасименко И.М.[2], Шелудько Ю.В.[2], Дейнеко Е.В.[1]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия; sidorch@bionet.nsc.ru*

[2] *Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины, Киев, Украина ysheludko@ukr.net*

Применение промоторов, обеспечивающих тканеспецифическую экспрессию трансгенов в целевых тканях-мишенях, снижает риск неблагоприятного воздействия рекомбинантных белков на растение, а также весьма привлекательно с точки зрения биобезопасности. Тем не менее, высокоспецифичные промоторы довольно часто теряют или изменяют свою специфичность при переносе в новое генетическое окружение, что требует тщательной предварительной проверки их экспрессионной активности в трансгенных растениях с помощью репортерных генов. Целью данной работы было оценить характер и эффективность экспрессии репортерного гена *uidA* под управлением тканеспецифичных промоторов двух генов *Arabidopsis thaliana*, *apetala3* и *rpt2a* в генетическом окружении *Nicotiana tabacum*. Ген *apetala3* (*ap3*) экспрессируется в цветочных меристемах и кодирует фактор транскрипции группы B, регулирующий развитие цветка. Ген *rpt2a* кодирует 19S регуляторную субъединицу 26S протеасомы и экспрессируется преимущественно в апикальных меристемах корня и стебля.

Установлено, что в проростках моноинсерционных гомозиготных растений табака, несущих в своем геноме ген *uidA* как под управлением промотора *ap3*, так и под управлением промотора *rpt2a*, GUS-окрашивание локализовалось в апикальной меристеме стебля и вдоль листовых жилок котиледонов и первых настоящих листьев, а также вторичных меристемах зоны ветвления корней. Кроме того, под управлением промотора *ap3* экспрессия гена *uidA* наблюдалась в меристемах кончиков корней и в тканях корня. Сравнение результатов теста на канамицин-устойчивость и гистохимического анализа показало, что интенсивность GUS-окрашивания была выше у потомков исходных трансформантов табака, несущих в геноме две и больше инсерций трансгена.

Для определения влияния числа копий трансгена на активность экспрессии была проведена гистохимическая оценка активности гена *uidA* в тканях гибридных проростков (F1), полученных от скрещивания моноинсерционных гомозиготных трансформантов табака с соответствующими типами генетических конструкций. Характер GUS-окрашивания у проростков, получивших в результате гибридизации две копии трансгена, в целом соответствовал характеру окрашивания, наблюдавшемуся в тканях моноинсерционных гомозиготных проростков с учетом типа генетических конструкций. Однако ни в одной из полученных гибридных комбинаций интенсивность окрашивания тканей не достигала уровня, имевшего место у проростков с двумя встройками трансгена, полученными в результате трансформации.

Весьма интересен тот факт, что у трансформантов, в геноме которых ген *uidA* находился под управлением промотора гена *ap3*, характер экспрессии репортерного гена в соматических тканях оказался идентичен тому, который наблюдался у трансформантов с промотором гена *rpt2a*. Однако если для промотора гена *rpt2a* такой тип экспрессии является нормой, то для промотора гена *ap3*, кодирующего фактор транскрипции флорального морфогенеза *A. thaliana*, экспрессия в меристемах и тканях вегетативных органов является эктопической и не описана в научной литературе.

Для оценки активности изучаемых промоторов в цветках было проведено GUS-окрашивание бутонов на разных стадиях развития у трансгенных растений табака с обоими типами генетических конструкций. Согласно ABC-модели флорального морфогенеза в цветках арабидопсиса в норме ген *ap3* экспрессируется только в лепестках и тычинках. Однако у трансгенных растений табака экспрессия гена *uidA* под управлением промотора *ap3* обнаруживалась во всех элементах цветка (за исключением тычиночных нитей) на разных стадиях его развития. Таким образом, в ходе флорального морфогенеза в гетерологичной системе экспрессии табака промотор гена *ap3* обеспечивает активную, но в основном эктопическую экспрессию гена *uidA*. Известно, что активность гена *rpt2a* у растений арабидопсиса обнаруживается во всех типах меристем, в том числе и цветочной. Судя по локализации GUS-окрашивания, у трансгенных растений табака на разных стадиях развития цветка промотор гена *rpt2a* обеспечивал более активную экспрессию репортерного гена *uidA* в цветоножке и цветоложе, и более слабую в развивающихся лепестках и тычинках.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект №14-04-00992 А.

МОБИЛЬНЫЕ ФРАКЦИИ УГЛЕВОДОВ СОЛОМИНЫ КАК РЕЗЕРВ ДЛЯ ФОРМИРОВАНИЯ ЗЕРНОВОК

Mobile carbohydrate fractions as a reserve for grain filling

Синенко О.С., Подопригорина С.И.

Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия
olga_sinenko@list.ru

У ячменя отложение запасных веществ в зерновку происходит, главным образом, в период от молочной до восковой спелости включительно. Одновременно происходит снижение фотосинтетической активности всего растения в связи с отмиранием листьев и листовых влагалищ. Встает вопрос: откуда поступают вещества для формирования эндосперма зерновки? Мы предположили, что источником пластических веществ для растущей зерновки являлись мобильные фракции углеводов, синтезированные в соломине на более ранних этапах онтогенеза, когда растения ассимилировали CO_2 с высокой скоростью (фаза трубкования), и избыток ассимилятов депонировался в соломине.

Растения ячменя *Hordeum vulgare* L. сорта «Дина», выращенные в открытом грунте мелкоделяночным способом в период трубкования были «подкормлены» $^{14}CO_2$. О распределении фотоассимилятов, синтезированных в этот период, в разные части растения на поздних этапах онтогенеза судили по радиоактивности органов. Определение низкомолекулярных сахаров и полисахаридов проводили из сухого материала резорциновым методом по А.И. Ермакову.

На ранних этапах развития основную часть биомассы растения ячменя составляли листья и листовые влагалища, а начиная с фазы трубкования еще и соломина. По мере роста соломины наблюдали увеличение ее биомассы и изменение состава углеводов в ней. Было отмечено, что происходил постепенный отток продуктов гидролиза полисахаридов из нижнего междоузлия в верхнее. В период от молочной до молочно-восковой спелости содержание низкомолекулярных углеводов в нижнем междоузлии уменьшилось на 10%, при этом увеличилось на 22,4% в верхнем, что, может быть связано с оттоком ассимилятов, запасенных в соломине в развивающийся эндосперм. Эти данные дополняют результаты по изменению радиоактивности частей растения в процессе его роста и развития. Так радиоактивность листьев уменьшилась в 16 раз с фазы трубкования до фазы полной спелости. Это несомненно связано, как с затратами на дыхание и метаболические процессы, так и с оттоком ассимилятов в соломину и формирующуюся зерновку, а также с их постепенным отмиранием. Дыхательные потери при этом составили 30% в фазу колошения и возросли до 60% в фазу полной спелости. При этом радиоактивность соломины и колоса в этот же период возросла в 5 раз. Сам факт накопления в зрелых зерновках ^{14}C-соединений свидетельствует об использовании в процессе их формирования ассимилятов, образованных растением ранее в фазу трубкования. Поэтому мы предполагаем, что в процессе онтогенеза происходит временное накопление углеводных фракций в соломине ячменя, которые постепенно, по мере снижения фотосинтетической активности растения и одновременного увеличения запроса на углеводы со стороны развивающейся зерновки, экспортируются в формирующийся эндосперм.

РАЗДЕЛЕНИЕ ВО ВРЕМЕНИ НЕСОВМЕСТИМЫХ ПРОЦЕССОВ ФОТОСИНТЕЗА И АЗОТФИКСАЦИИ У ОДНОКЛЕТОЧНОЙ ДИАЗОТРОФНОЙ ЦИАНОБАКТЕРИИ *CYANOTHECE* SP. ATCC 51142: ЦИРКАДНЫЕ И УЛЬТРАДИАННЫЕ МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ РИТМЫ

Temporal separation of the mutually exclusive processes of photosynthesis and nitrogen fixation in unicellular diazotrophic cyanobacterium *Cyanothece* sp. ATCC 51142: circadian and ultradian metabolic rhythms

Синетова М.А.[1,2], Маркелова А.Г.[1], Červený J.[2], Valledor L.[2], Nedbal L.[2]

[1] *ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия; maria.sinetova@mail.ru*
[2] *Global Change Research Centre–CzechGlobe, AS CR, Drásov, Czech Republic*

Одноклеточная цианобактерия *Cyanothece* sp. ATCC 51142 (далее *Cyanothece*) способна осуществлять в одной клетке взаимоисключающие процессы оксигенного фотосинтеза и микроаэробной фиксации азота, разделяя их во времени: клетки фотосинтезируют в светлое время суток, а ночью фиксируют азот. Для разделения этих процессов во времени необходима тонкая регуляция метаболических процессов, которая может осуществляться циркадными часами или другой клеточной программой, ограничивающей во времени один метаболический процесс от другого, не совместимого с ним.

Мы показали, что у *Cyanothece* в дополнение к циркадным ритмам присутствуют ультрадианные метаболические ритмы (с периодом меньше суток). Ультрадианные ритмы проявляются в условиях роста на среде без азота при высоком содержании углекислоты (0,5%) и постоянном освещении светом высокой интенсивности (выше уровня, насыщающего фотосинтез). Ультрадианный метаболический цикл состоит из двух фаз: фотосинтеза и фиксации азота. Во время фотосинтетической фазы клетки активно фотосинтезируют и снижают интенсивность дыхания, в среде повышается концентрация растворенного кислорода, в клетках происходит накопление гликогена, к этой фазе приурочено деление клеток. После накопления порогового количества гликогена, клетки переходят к фазе фиксации азота. Интенсивность фотосинтеза значительно снижается, а дыхание, наоборот, возрастает, таким образом, концентрация токсичного для нитрогеназы кислорода снижается и в клетках, и в среде. В качестве субстрата для дыхания используется гликоген. В результате активизируется нитрогеназа, и клетки фиксируют атмосферный азот, необходимый для дальнейшего роста.

Мы обнаружили зависимость периода этого метаболического цикла как от температуры так и от освещения. Так, при температуре 27°C период колебаний составлял 17 ч, а при 39°C – 10 ч. При увеличении освещения амплитуда колебаний концентрации растворенного в среде кислорода возрастала, а при низкой интенсивности освещения (ниже уровня насыщения фотосинтеза) период метаболического ритма изменялся с ультрадианного на циркадный. Аналогичная смена ритма происходила при возрастании плотности культуры. На период ультрадианного ритма влияет также содержание углекислоты в подаваемой воздушной смеси: ультрадианный ритм проявляется при насыщающих фотосинтез концентрациях углекислоты от 700 ppm, при этом его период уменьшается с ростом концентрации CO_2, достигая минимума при 5000 ppm, и затем не меняется до 20000 ppm. Из полученных результатов следует, что период ультрадианного ритма зависит не от скорости роста, а от интенсивности процесса фотосинтеза.

Предварительные данные по экспрессии генов показали периодические изменения в содержании транскриптов генов железосодержащего белка нитрогеназы *nifH* и белка, отвечающего за синтез Fe-Mo кофактора нитрогеназы *nifB*. В то же время было показано, что количество соответствующих белков остается стабильным на протяжении всего времени эксперимента.

Мы предполагаем, что обнаруженный ультрадианный метаболический цикл *Cyanothece* дополняет уже известные циркадные часы в регуляции метаболизма, в частности в регуляции смены фотосинтетической и дыхательной фаз. Ультрадианный метаболический цикл может отражать реальное метаболическое состояние клетки, зависящее от температуры окружающей среды, интенсивности освещения, доступности CO_2.

ФУНКЦИИ ПЛАЗМАЛЕММНОЙ H+-АТФАЗЫ ПРИ ПРОРАСТАНИИ СЕМЯН КОНСКОГО КАШТАНА И КОРМОВЫХ БОБОВ

Functions of plasmalemma H+-ATPase in germinating horse chestnut and broad bean seeds

Синькевич И.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; sinkevich_ia@mail.ru

Фермент плазмалеммная H+-АТФаза, один из ключевых ферментов метаболизма, обладает двумя разными функциями, важными для функционирования растительной клетки.

Во-первых, она гидролизует АТФ с образованием АДФ и освобождением энергии, которая используется в основных метаболических процессах. Во-вторых, H^+-АТФаза выкачивает протоны из клетки в апопласт в обмен на транспортируемые в клетку ионы K^+. Подкисление апопласта приводит к разрыхлению структуры клеточной стенки и позволяет начаться растяжению клеток. Эта функция напрямую связана с инициацией роста растяжением т.е. с началом «кислого роста». Целью этой работы было изучить, как соотносятся эти функции при прорастании семян. Объектами исследования были ортодоксальные семена кормовых бобов и рекальцитрантные семена конского каштана. Эти семена отличаются тем, что при прорастании растяжение клеток значительно опережает деление.

Гидролитическую активность плазмалеммной H^+-АТФазы определяли в осевых органах на последовательных этапах прорастания по выделению фосфата. Активность фермента представляла собой разницу между вариантами в отсутствие и в присутствии ее ингибитора Na_3VO_4 по методу Janicka-Russak M. et al. [2012]

Выделение протонов измеряли по изменению pH окружающего раствора осевыми органами семян. Было показано, что активное выделение H^+ предшествует началу растяжения клеток осевых органов каштана и что само начало роста растяжением после проклевывания характеризуется усилением выделения протонов. Фузикокцин резко усиливал подкисление среды зародышевыми осями каштана, а также ускорял проклевывание семян бобов и сам рост растяжением. Специфический ингибитор H^+-АТФазы ортованадат существенно замедлял прорастание семян бобов.

Динамика активации выделения протонов при прорастании отличалась от динамики гидролиза АТФ.

Обнаружено существенное возрастание гидролитической активности H+-АТФазы у проклюнувшихся (в 2,5 раза) и растущих растяжением осевых органов каштана (в 3,5 раза) по сравнению с непроклюнувшимися. Ингибиторы синтеза белка (циклогексемид) и ингибитор синтеза мРНК (α-аманитин) не влияли на дефосфорилирующую активность H^+-АТФазы. Это указывает на то, что этот фермент активируется не за счет синтеза его белка. Фузикокцин – активатор H^+-АТФазы, также не влияет на гидролитическую активность этого фермента.

При прорастании семян бобов активность была низкой до тех пор, пока осевые органы не достигали длины 1,5 см после проклевывания. Затем активность возрастала в 3-4 раза. Фузикокцин не стимулировал гидролитическую активность H^+-АТФазы ни до ни после прорастания.

Таким образом, выделение протонов H^+-АТФазой усиливается при прорастании семян гораздо раньше, чем активируется гидролитическая способность фермента. Следовательно, активация роста растяжением путем усиленного выделения протонов этим ферментом опережает ускорение его гидролитической активности.

Работа поддержана грантом РФФИ № 14-04-31609.

ИЗОФЕРМЕНТНЫЙ СОСТАВ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ И КАТАЛАЗЫ У РАСТЕНИЙ *ARABIDOPSIS THALIANA* В ПРОЦЕССЕ ЗАКАЛИВАНИЯ

Izoenzyme specter of superoxide dismutase and catalase in *Arabidopsis thaliana* plants during cold hardening

Синькевич М.С.

ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия; sinkevich_m@mail.ru

Изучение механизмов устойчивости растений к низким температурам является важной и актуальной темой в свете того, что огромные территории, в том числе занятые сельскохозяйственными культурами, подвержены действию гипотермии. С фундаментальных позиций представляет интерес изучение молекулярных механизмов устойчивости, что в настоящее время возможно, главным образом, на модельных объектах. С этой точки зрения в качестве объекта исследования хорошо подходят растения *Arabidopsis thaliana*, которые также являются типичными холодостойкими (слабо морозостойкими) растениями.

Способность растений к закаливанию связана с включением присущих им механизмов устойчивости в период действия адаптирующих температур с целью противодействия эффектом более жесткого последующего охлаждения. На сегодняшний день выявлено несколько различных повреждающих факторов, возникающих в связи с пониженной температурой, среди которых важное место занимает окислительный стресс. Успешное противодействие окислительному стрессу отличает холодостойкие виды от теплолюбивых, при этом и те, и те обладают принципиально сходной системой защиты от данного стресса. Считается, что главную роль в защите от избытка АФК в клетке играют ферменты, обладающие непосредственной антиоксидантной активностью: супероксиддисмутаза и каталаза. Ранее в нашей лаборатории было показано, что растения *Arabidopsis thaliana* после закаливания при 2˚С в течение 5 суток повышали свою устойчивость с LT_{50} = -3˚С до LT_{50} = -6˚С. Целью данной работы было изучить изменения изоферментного спектра супероксиддисмутазы и каталазы, происходящие в процессе закаливания.

В качестве объекта исследования были использованы растения *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh экотипа Col-0, как типичного представителя холодостойких растений, которые в возрасте 7-8 недель (в вегетативной фазе) закаливали при 2˚С в течение 5 суток при 16 ч световом дне. Контролем служили незакаленные растения. Изоферментный состав изучали с помощью нативного гель-электрофореза с последующим специфическим окрашиванием и анализировали в программе 1DScan.

Согласно полученным данным, активность супероксиддисмутазы временно возрастает на 2-3 сутки охлаждения, однако затем снижается до исходных значений. При помощи ингибиторного анализа показано присутствие всех трех основных типов супероксиддисмутазы (Cu/Zn-SOD; Fe-SOD и Mn-SOD) в течение всего периода закаливания, новых изоформ не обнаружено. Программный анализ показал, что изменения суммарной активности происходили главным образом за счет изменения активности Cu/Zn-SOD. Таким образом, среди всех типов супероксиддисмутазы представляется перспективным изучить регуляцию и уровень экспрессии генов именно Cu/Zn-SOD.

Активность каталазы также временно повышалась на 2-3 сутки закаливания, и также как и активность супероксиддисмутазы постепенно снижалась к концу периода действия низкой температуры. В спектре каталазы нами было выявлено две изоформы, активность одной из которых (CAT2) была определяющей. Именно эта изоформа меняла свою активность, поэтому, также как и в отношении супероксиддисмутазы, представляется перспективным изучить регуляцию и уровень экспрессии гена CAT2.

Таким образом, среди исследованных ферментов изменения активности обусловлены либо наиболее чувствительными изоформами (Cu/Zn-SOD), либо наиболее активными (CAT2), что по предположительно объясняется изменением экспрессии соответствующих генов в ответ на действие низкой температуры.

ОЦЕНКА ОБРАЗЦОВ ЯРОВОЙ ТРИТИКАЛЕ НА ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТЬ

Assessment of drought tolerance of spring triticale varieties

Ситников А.В.[1], Шахова Т.Н.[1], Большакова Л.С.[1], Пухальская Н.В.[2]

[1] *Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия* bolsh3@yandex.ru

[2] *Отдел научных проектов ООО «Агропарк», Москва, Россия;* n-v-pooh@ya.ru

Перед селекционерами стоит задача повышения засухоустойчивости яровой тритикале, для чего необходима разноплановая характеристика исходного материала. Представляется важным исследовать степень адаптивности образцов яровой тритикале к разным типам засухи по различным физиологическим, биохимическим, генетическим показателям, при использовании полевых и лабораторных методов оценки засухоустойчивости.

Проведена оценка реакции сортообразцов яровой тритикале на действие разных типов моделируемой засухи. Была определена степень прорастания семян при варьировании осмотического давления раствора сахарозы, охарактеризованы ростовые процессы 5-6 дневных проростков, водоудерживающая способность листьев и выход электролитов из листовых пластинок при засухе в фазу кущения растений.

Изученные образцы яровой тритикале различаются по степени прорастания семян на растворах сахарозы с осмотическим давлением 16 атм., рекомендованных для оценки засухоустойчивости в методических рекомендациях Всероссийского института растениеводства. Большинство образцов имели прорастание при таком осмотическом давлении раствора сахарозы по сравнению с контролем в пределах 67-100% (1 группа - устойчивые), меньшая часть – в пределах 34-66% (2 группа – среднеустойчивые), и только единичные образцы характеризовались неустойчивым прорастанием (3 группа – слабоустойчивые). Тестирование образцов при изменении осмотического давления раствора сахарозы в ряду 10, 12, 14, 16, 18, 20 атм. показало, что образцы из первой группы имели незначительное снижение доли проросших зерен при 10 и 12 атм. по сравнению с контролем (до 9%). У образцов из второй группы при таких же значениях осмотического давления раствора сахарозы доля проросших зерен снижалась на 20%. При высоких значениях осмотического давления 18 и 20 атм. реакция всех образцов была одинакова и характеризовалась большой долей не проросших семян.

Оценка образцов яровой тритикале этих групп в фазу кущения по выходу электролитов из листьев, характеризующего устойчивость мембран при недостатке водообеспеченности, и по водоудерживающей способности листьев, показала, что образцы из 1 группы (устойчивые по прорастанию семян) не всегда имели свойство мембран и водоудерживающую способность, характерную для растений устойчивых к засухе. Это показывает изменение физиологического статуса и адаптационных стратегий у растений в различные периоды онтогенеза.

Проведенный корреляционный анализ не показал зависимости между изученными физиологическими показателями и снижением урожайности сортообразцов яровой тритикале в полевых условиях в засушливые годы, по сравнению с годами оптимальными по увлажнению.

ПРИЗНАКИ ПРОДУКТИВНОСТИ СОРТОВ РИСА

The traits of rice varieties productivity

Скаженник М.А., Воробьев Н.В., Ковалев В.С., Пшеницына Т.С., Брагина О.А., Моторная О.Ю.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт риса, Краснодар, п. Белозерный, Россия; sma_49@mail.ru

В результате изучения закономерностей продукционного процесса у разных по урожайности сортов риса установлено, что продуктивность фотосинтеза у посевов одинаковой длины вегетационного периода на оптимальном фоне минерального питания различается мало, а их разная зерновая продуктивность определяется характером распределения ассимилятов по побегам растения и по органам отдельного побега. У высокопродуктивных сортов риса наблюдается более интенсивный приток пластических веществ к формирующейся метелке продуктивного побега, что обуславливает интенсивное ее развитие с образованием в ней большего числа колосков и зерновок, определяющих повышенную урожайность этих генотипов. При этом несколько снижается приток ассимилятов к боковым побегам, что увеличивает долю их редукции и приводит к уменьшению густоты продуктивного стеблестоя. В связи с установленным характером распределения ассимилятов по органам побега риса была поставлена задача – определить количественные параметры массы метелок, числа в них зерновок и их доли в общей биомассе посева ($K_{хоз}$), определяющих урожайность сортов, для использования их в селекции при оценке образцов на продуктивность.

Опыты проводили в 2012-2013 гг. в специальных железобетонных микрочеках, заполненных лугово-черноземной почвой и позволяющих поддерживать нужный режим орошения риса, характерный для производственных посевов. В качестве объектов исследования использовали разные по урожайности районированные и перспективные сорта. Фон минерального питания – $N_{24}P_{12}K_{12}$ г д.в. на 1 м^2 посева, близкий к оптимальному. Густота всходов – 300 шт./м^2. В фазу цветения отбирали по 20 растений каждого сорта для определения массы их метелок и их доли в общей массе побегов. В фазу полной спелости определяли число зерновок в метелках и на 1 м^2 посева, долю зерна в общей биомассе ($K_{хоз}$, %) и урожайность сортов.

Разная урожайность у сортов риса в значительной степени определяется величиной кущения их растений. При сильном кущении ослабляется развитие метелок у главных продуктивных побегов в результате уменьшения притока к ним ассимилятов при повышенном расходе их на образование боковых побегов. Это четко проявляется в фазу цветения растений, когда у сортов риса с сильным общим кущением понижается масса метелок и их доля в общей массе побега, а у генотипов с умеренным кущением формируется более крупные метелки с повышенной массой. Между количественными параметрами этих признаков и урожайностью сортов установлена высокая прямая корреляционная связь. У высокоурожайных сортов Рапан, Визит, Гамма масса метелки в фазе цветения составляет 0,36-0,46 г, а ее доля в массе побега - 14,1-15,9%, тогда как у менее урожайных сортов – Сонаты и Атланта – составляет, соответственно, 0,28-0,32 г и 10,5-13,1%. Количественные параметры этих признаков используются при оценке селекционных образцов на продуктивность.

Повышенная масса метелок у сортов риса в фазу цветения связана с образованием в них большего числа колосков, которые в результате цветения и оплодотворения образуют соответствующее число зерновок в созревающих метелках и на 1 м^2 посева, а отсюда и высокую урожайность. Между количеством зерен в метелках и на 1 м^2 посева и урожайностью сортов установлена высокая прямая связь, позволяющая широко использовать эти признаки при оценке селекционных образцов на продуктивность.

В результате увеличения массы зерновок метелок и их доли в общей биомассе посева значительно возрос коэффициент хозяйственной эффективности фотосинтеза ($K_{хоз.}$) у высокопродуктивных сортов риса. Его связь с их урожайностью достигает максимальной величины (0,97±0,11) и он широко используется при оценке селекционных образцов.

Среди значительного числа признаков и показателей, характеризующих продукционную деятельность посевов сортов риса, наиболее важными являются: масса метелки и ее доля в массе побега в фазу цветения, число зерновок в метелке и на 1 м^2 посева, доля зерна в массе посева и урожайность сорта в полную спелость. Установлены количественные параметры этих признаков, которые используются во ВНИИ риса при создании новых высокопродуктивных сортов.

РОЛЬ ГЕВЕИНОПОДОБНЫХ ПЕПТИДОВ В ЗАЩИТНОЙ СИСТЕМЕ РАСТЕНИЙ

Hevein-like peptides and their role in plant immunity

Славохотова А.А., Слезина М.П., Шеленков А.А., Одинцова Т.И.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия; annslav82@gmail.com

В ходе эволюции растения выработали целый арсенал механизмов защиты от патогенных микроорганизмов и насекомых-вредителей. Растительный иммунитет представляет собой сложную многоступенчатую систему защиты, которая включает многочисленные антимикробные соединения, активно подавляющих развитие и размножение патогенных микроорганизмов. Одними из представителей антимикробных соединений являются антимикробные пептиды (АМП), выполняющие в растениях функции первичной защиты в ответ на заражение патогенами. Семейство гевеиноподобных АМП растений включает пептиды, состоящие из 30–45 аминокислотных остатков и сходные по аминокислотной последовательности с хитин-связывающими доменами защитных белков хитиназ. Механизм действия гевеиноподобных АМП до недавних пор оставался не изученным.

Совсем недавно нами была описан механизм действия пептидов WAMP, относящихся к семейству гевеиноподобных и выделенных из высоко устойчивого вида пшеницы *Triticum kiharae*. Эти пептиды содержат 10 остатков цистеина, образующих уникальный, ранее не известный у данного семейства цистеиновый мотив (Odintsova et al., 2009). Сходство пептида WAMP-1a с хитиназой класса I/IV злаков, прослеживаемое на уровне нуклеотидной последовательности генов (Andreev et al., 2012), аминокислотной последовательности белков и, наконец, на уровне пространственных структур (Dubovskii et al., 2011), дало основание предположить, а затем и доказать один из возможных механизмов действия данных пептидов. Оказалось, что WAMPs специфично действуют на секретируемую цинковую металлопротеазу, фунгализин, класса M36 гриба *Fusarium verticilloides* (Slavokhotova et al., 2014). Ряд последовательных экспериментов позволил нам установить следующую модель взаимодействия растения – патоген. Растение экспрессирует защитный белок хитиназу в ответ на проникновение гифов гриба, чтобы связаться с хитином в гифах и нарушить их целостность. Тогда гриб в ответ на такое действие растения вырабатывает фунгализин, который специфически расщепляет хитиназу и не дает хитиназе осуществлять свои функции. И уже следующим шагом растения является экспрессия гевеиноподобных пептидов WAMP, которые, в свою очередь, связываются с фунгализином и ингибируют его действие. При этом фунгализин не может осуществлять свою функцию – расщепление хитиназы, хитиназа остается интактной и способной осуществить связывание с хитином гриба и обезвредить действие патогена.

В продолжение работы мы осуществляем поиск и предсказание гевеиноподобных пептидов и гомологов пептидов WAMP, имеющих повышенную антимикробную активность и способность ингибировать цинк-зависимые протеазы фитопатогенных грибов. Прежде всего, с помощью биоинформатического подхода нами была проанализирована крупнейшая база данных NCBI GenBank и установлены последовательности гомологичных WAMP пептидов. Часть из них имеют лишь точечные замены в зрелом пептиде, тогда как другие значительно отличаются от пептидов WAMP и имеют лишь общий цистеиновый мотив. Кроме того, нами было проведено *in silico* моделирование взаимодействия пептида WAMP-1a и металлопротеазы термолизина, относящегося к тому же классу металлопротеаз, что и фунгализин. Благодаря этому были установлены аминокислотные остатки пептида WAMP, принимающие участие во взаимодействии с термолизином. Точечные замены этих остатков позволит в будущем получить пептиды, гомологичные WAMP и обладающие большей ингибирующей активностью к различным металлопротеазам.

Данная работа была выполнена при поддержке гранта Президента РФ МК-5568.2015.4.

СЕМЕЙСТВО ГЕНОВ ГЕВЕИНОПОДОБНЫХ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ И ЕГО РОЛЬ В УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ К ФИТОПАТОГЕНАМ

Hevein-like antimicrobial peptides and their role in plant resistance to phytopathogens

Слезина М.П., Коростылева Т.В., Истомина Е.А., Славохотова А.А., Одинцова Т.И.

Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, Россия; omey@list.ru

Антимикробные пептиды (АМП) – важнейшие компоненты иммунной системы растений. Они подавляют рост и развитие патогенных микроорганизмов, действуя на мембраны патогенов и/или внутриклеточные мишени. Считается, что АМП образуют «первую линию обороны» против патогенов. Подавляющее большинство АМП растений – цистеинбогатые полипептиды, структура которых стабилизирована 2-7 дисульфидными связями. По сходству аминокислотных последовательностей и пространственной структуры выделяют несколько семейств АМП растений: дефензины, тионины, гевеино- и ноттиноподобные пептиды, липидпереносящие белки и харпинины. Помимо фундаментального значения, изучение АМП важно и с практической точки зрения: для поиска генов-кандидатов для трансформации растений и создания устойчивых к болезням форм сельскохозяйственных растений.

Ранее нами из семян высоко устойчивого вида пшеницы *Triticum kiharae* Dorof. et Migush. были выделены два новых АМП, названные WAMP-1a и WAMP-1b, относящиеся к новому семейству гевеиноподобных пептидов, которые обладают высокой ингибирующей активностью в отношении широкого спектра важнейших фитопатогенов. Эти пептиды обладают следующими структурными особенностями: в их молекулах 5 дисульфидных связей, образующих уникальный цистеиновый мотив. Кроме того, в хитин-связывающем сайте этих пептидов, который, как полагают, непосредственно взаимодействует с хитином клеточных стенок патогенов, консервативный остаток серина заменен на глицин. Такой замены не было обнаружено ни в одном хитин-связывающем белке растений. Нами было установлено, что пептиды семейства WAMP пшеницы являются специфическими ингибиторами металлозависимых протеиназ фузариевых грибов, выступающих в качестве факторов вирулентности. Для исследования универсальности обнаруженного механизма защиты растений с участием пептидов семейства WAMP, необходимо было выявить гены-гомологи у других видов растений.

В связи с эти цель настоящей работы состояла в поиске генов-гомологов пептидов WAMP у представителей семейства Злаковые, включая как культурные (ячмень, кукуруза, овес, тритикале, рожь), так и дикорастущие виды (ежовник, пырей, плевел).

Для поиска генов-гомологов пептидов WAMP у представителей семейства Злаковые геномную ДНК выделяли из 3-дневных проростков с помощью набора реактивов для выделения ДНК Genomic DNA Purification Kit. Полученную ДНК (10 нг) использовали в качестве матрицы для ПЦР. Для амплификации кодирующей части гена использовали пары специфичных к ней праймеров, сконструированных на основе известной последовательности кДНК пептидов WAMP пшеницы. Полученные ПЦР-продукты выделяли из агарозного геля, клонировали в pAL-TA-вектор и секвенировали. Для каждого образца было просеквенировано не менее трех клонов. Для проверки экспрессии исследуемых генов ПЦР проводили, используя в качестве матрицы кДНК.

Проведенная работа была посвящена изучению распространения и полиморфизма генов семейства *wamp* у культурных и дикорастущих представителей семейства Злаковые. Поиск генов-гомологов WAMP показал, что у кукурузы и риса генов, близкородственных *wamp,* нет, что согласуется с более ранней дивергенцией этих видов злаков от общего предка. В то же время у остальных исследованных видов (ячмень, овес, рис, рожь, тритикале) были обнаружены гены, кодирующие предшественники пептидов WAMP. Структура предшественников сходна: они состоят из сигнального пептида, зрелого пептида и С-концевого продомена. Наибольшие различия сосредоточены в области сигнального пептида и С-концевого продомена, в то время как последовательность зрелого пептида более консервативна. В функционально значимом положении 34 аминокислотной последовательности, определяющем силу ингибирования металлозависимой протеиназы грибов, выявлены остатки лизина, аланина и валина. У гомолога WAMP ячменя обнаружена, кроме того, делеция в области зрелого пептида, затрагивающая структурообразующий остаток цистеина. Функциональную значимость этой замены еще предстоит выяснить. Исследование экспрессии генов семейства *wamp* путем анализа кДНК показало, что у всех исследованных видов они экспрессируются в проростках.

Обнаруженный в настоящем исследовании высокий консерватизм структуры пептидов семейства WAMP в эволюции свидетельствует о большой функциональной значимости этих пептидов в защитной системе растений. Более того, он предполагает существование сходного защитного механизма против патогенных грибов, который заключается в ингибировании секретируемых протеиназ, являющихся факторами вирулентности.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ (15-04-04680) и программы Президиума РАН «Биоразнообразие».

ВЛИЯНИЕ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОГО СТРЕССА НА ФОРМИРОВАНИЕ РЕПРОДУКТИВНЫХ ОРГАНОВ И ПРОДУКТИВНОСТИ У РАСТЕНИЙ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ

The effect of low temperature stress on the formation of the reproductive organs and the productivity of winter wheat plants

Смирнова В.С.

Автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования Ленинградский государственный университет имени А.С. Пушкина, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия; biolgu@mail.ru

Формирование продуктивности является конечным результатом жизнедеятельности растений, в течение которого они должны выжить после неблагоприятных внешних условий, пройти определенные этапы развития, образовать вегетативные, развить генеративные, репродуктивные органы и сформировать продуктивность. Различия в уровне устойчивости, наиболее отчетливо проявляются при определенной для культуры и сорта напряженности экстремального фактора. Это обусловлено способностью организма сохранять нормальный уровень метаболизма, характер развития, а также вырабатывать защитные адаптационные приспособительные реакции на неблагоприятные условия. Изучение анатомо-морфологических и физиологических процессов целостного растительного организма позволяет учитывать системные взаимодействия функций органов, тканей и клеток при их определенных отношениях, что важно при исследовании проблемы устойчивости растений к пониженным и низким температурам.

Исходной позицией в решении проблемы экологизации земледелия является разработка системы агроэкономической оценки сельскохозяйственных культур, с целью выявления наиболее устойчивых генотипов. Этой проблеме посвящен раздел в сельскохозяйственной экологии. Разработка теоретических и практических аспектов проблемы устойчивости особо важна для выявления ареала возделывания культур, различных целей растениеводства, селекции направленных на создание пластичных, продуктивных и устойчивых сортов, в том числе для регионов рискованного земледелия. При оценке на устойчивость изучаемого материала, чаще учитывают способность семян к прорастанию при пониженных температурах и выживаемость растений после заморозков, низких отрицательных температур. Это объясняется отсутствием показателей оценки степени повреждения растения. Недостаточно изучено влияние полученных повреждений на формирование репродуктивных органов и продуктивности.

Объектом исследования были разные по устойчивости 8 сортов озимой пшеницы *Triticum aestivum*. Растения в зимний период имели 2-3 этап органогенеза, их промораживали при температурах от -7 до -19°С, а выращивали до урожая в оптимальных условиях. Анатомо-морфологические и биохимические исследования различных тканей органов проводили в течение месяца, прохождение этапов органогенеза в течение периода формирования репродуктивных органов до полного созревания.

Характер физиологических и анатомо-морфологических изменений органов и тканей в онтогенезе после низких стрессовых температур показал их неспецифический характер повреждения в системе целого вегетирующего растения озимой пшеницы. У продолжающих вегетировать растений проявляются существенные нарушения и повреждения, которые сказываются на темпах роста и развития, формировании репродуктивных органов и их продуктивности. Выявлено, что у поврежденных растений существенно задерживается наступление следующих фенологических фаз, что удлинялся период вегетации. Низкотемпературный стресс оказывал существенное влияние на формирование элементов продуктивности. У поврежденных растений в большей степени уменьшалась масса колоса, чем длинна, формировалось меньше зерновок, которые были более легковесны. В зависимости от степени повреждения в колосе значительно уменьшалось число колосков и цветков. Это являлось причиной снижения его озерненности, потенциальных и реальных возможностей растения для формирования высокой продуктивности, что было более значимым для боковых побегов. В колосьях этих растений увеличивалась длина члеников нижней части колосового стержня главного побега, а у боковых, наоборот, значительно уменьшалась. Масса одной зерновки снижалась в меньшей степени, чем масса зерна в колосе. Иногда у поврежденных растений формируется меньше зерновок, которые более выполнены и полновесны. Иногда формируется больше зерновок, но более щуплых с плохо выполненным эндоспермом. Депрессия урожая зерна при слабой степени повреждения может составлять 10-15%, а при незначительном выпадении поврежденных растений (5-8%), оставшиеся растения из-за улучшенных условий для произрастания, формируют урожай с единицы площади на уровне контрольных. При средней степени повреждения снижения урожая зерна может достигать 45-58%, а при сильной – до 75-95%. Высокие темпы роста, синтеза, накопления биомассы и сухого вещества - основа сочетания у растений устойчивости и продуктивности.

ОСОБЕННОСТИФУНКЦИОНИРОВАНИЯЛИПОКСИГЕНАЗНОГОКАСКАДАРАСТЕНИЙ ПРИВЗАИМОДЕЙСТВИИСФИТОПАТОГЕННЫМИЭНТЕРОБАКТЕРИЯМИ

Plant lipoxygenase cascade functioning features during plant-phytopathogen interaction

Смирнова Е.О., Сафина А.Ф., Горина С.С., Топоркова Я.Ю., Петрова О.Е.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской Академии наук, Казань, Россия; yelena.smirnova@aiesec.net

У растений при формировании ответа на стрессовые факторы, в том числе инфицирование фитопатогенными бактериями, важная роль принадлежит ферментам липоксигеназного каскада: цитохромам Р450 семейства CYP74 и липоксигеназам. Результатом работы этого каскада является образование биоактивных окисленных производных жирных кислот – оксилипинов.

В данной работе была проведена оценка динамики экспрессии генов ферментов липоксигеназного каскада у растений льна-долгунца (*Linum usitatissimum* L.), кукурузы обыкновенной (*Zea mays* L.) и зеленого мха *Physcomitrella patens* при инфицировании клетками фитопатогенных энтеробактерий *Pantoea ananatis* LMG 20103 и *Pectobacterium atrosepticum* SCRI1043. Выбор растительных объектов обусловлен интересом к изучению изменения функционирования липоксигеназного каскада у растений, принадлежащих разным таксонам: однодольные (кукуруза), двудольные (лен-долгунец) и мхи (*P. patens*). Липоксигеназный каскад всех трех объектов различается. У льна-долгунца он дополнен дивинилэфирсинтазами. В то же время, липоксигеназный каскад *P. patens* усложнен тем, что в отличие от цветковых растений, у которых субстратами липоксигеназ являются линолевая и α-линоленовая кислоты (C_{18}), у *P. patens* дополнительным субстратом является арахидоновая кислота (C_{20}). Этим объясняется значительное увеличение количества липоксигеназ у *P. patens*.

Результаты настоящей работы свидетельствуют, что в полном согласии с данными литературы липоксигеназный каскад принимает участие в формировании ответа на инфицирование клетками фитопатогенных энтеробактерий. При этом дивинилэфирсинтазы имеют первостепенное значение в этом процессе. Показано, что у льна-долгунца при инфицировании происходит индукция экспрессии всех четырех генов дивинилэфирсинтаз; кроме того, показано, что продукт каталитического действия дивинилэфирсинтаз обладает бактериостатическим действием. В то же алленоксидсинтазный путь, по-видимому, участвует в формировании общего ответа на стрессовый фактор независимо от его природы. В свою очередь, функционирование гидропероксидлиаз различается не только у разных видов растений, но и у разных изоформ. По-видимому, это связано со значением образуемых продуктов, которыми могут быть травматин, различными оксо-кислоты, либо летучие соединения, являющиеся популяционным сигналом об опасности.

Нами было показано, что инокуляция клетками *Pectobacterium atrosepticum* SCRI1043 листьев льна ведет к увеличению содержания в них (ω5*Z*)-этероленовой кислоты. В литературе имеются аналогичные сведения об изменении содержания дивиниловых эфиров при инфицировании растений патогенами. Для проверки биологической активности дивиниловых эфиров в отношении *P. atrosepticum* SCRI1043 исследуемые продукты добавляли в культуру клеток, после чего определяли количество колониеобразующих единиц. Через 24 ч после добавления к культуре клеток этероленовой и (11*Z*)-этероленовой кислот в концентрации 0,5 мМ проявлялся бактериостатический эффект, который через 48 ч снижался. (ω5*Z*)-Этероленовая кислота в той же концентрации обладает бактерицидным действием, через 48 ч в культуре не было обнаружено живых клеток. Все перечисленные дивиниловые эфиры в концентрации 0,25 мМ обладают бактериостатическим действием в первые 24 ч, после 48 ч титр колоний эквивалентен контролю.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 14-04-01532 А, 15-04-08310 А, 13-04-40103-Н, МК-6529.2015.4 и НШ-1890.2014.4.

КОРОТКИЕ ПЕПТИДЫ КАК ВОЗМОЖНЫЕ ФАКТОРЫ РЕГУЛЯЦИИ ОНТОГЕНЕЗА У РАСТЕНИЙ

Short biologically active peptides as possible factors of plant ontogenesis control

Смирнова Т.А.[1,2], Федореева Л.И.[1,2], Диловарова Т.А.[2], Коломийцева Г.Я.[1], Мартиросян Ю.Ц.[2]

[1] *Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Москва, Россия; smirnova@belozersky.msu.ru*

[2] *ВНИИ сельскохозяйственной биотехнологии РАН, Москва, Россия*

В настоящее время внимание исследователей привлекает возможная биологическая роль коротких пептидов (2-4 аминокислоты). Предполагается, что они являются участниками эпигенетического механизма регуляции активности генов и клеточной дифференцировки. Нами было получено подтверждение этого предположения в опытах по получению регенерантов табака (*Nicotiana tabacum* L., сортотип Самсун) и томата (*Solanum lycopersicum*, сорт Белый налив). Регенеранты выращивали в чашках Петри на агаризованной среде Мурасиге-Скуга с добавлением гормонов в присутствии низких концентраций (10^{-8}–10^{-7} М) биологически активных пептидов. Изучались следующие показатели: скорость образования каллусной массы, количество регенерантов, скорость роста регенерантов, образование корневой системы у регенерантов. Конкретный тип регенерации зависел от структуры пептида и его концентрации. Применение пептида Ala-Glu-Asp-Gly позволяло получить наиболее значимые результаты по всем изучаемым параметрам. Повышение концентрации пептидов (10^{-6}–10^{-5} М) приводило к замедлению как скорости роста регенерантов, так и образования у них корневой системы. Присутствие в среде роста дипептида Lys-Glu во всем изученном концентрационном ряду вызывало межнуклеосомную фрагментацию ДНК у регенерантов табака. Это может свидетельствовать о пептидной индукции апоптоза.

Мы испытали изучаемые пептиды *in vitro* в модельной системе эндонуклеаз WEN1 и WEN2, участвующих в апоптозе клеток колеоптиля проростков пшеницы, и обнаружили, что они модулируют действие растительных эндонуклеаз. Ранее мы показали, что действие эндонуклеаз в реакции гидролиза ДНК фага λ модулируется гистонами пшеницы (кор-гистонами и гистоном Н1). Характер модуляции (активация или ингибирование) зависел от типа кор-гистона и подфракции Н1, а также от статуса метилирования ДНК. Добавление пептидов к системам с разными типами гистонов показало, что пептиды влияют на модуляцию действия эндонуклеаз гистонами по-разному для разных гистонов и эти эффекты определялись статусом метилирования субстратной ДНК. Нами установлено, что взаимодействие пептидов с гистонами и гистонами в комплексе с дезоксирибоолигонуклеотидами разной структуры и статуса метилирования происходит сайт-специфически. Таким образом, в реакции расщепления ДНК эндонуклеазами изученные пептиды, с одной стороны, могут оказывать непосредственное воздействие на сами ферменты, с другой – их действие в хроматине клеток растений может быть опосредовано сайт-специфическим взаимодействием с гистонами. Так или иначе, короткие пептиды могут претендовать на роль эпигенетического фактора клеточной дифференцировки и онтогенеза.

СОРТОВАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ ПРОДУКЦИОННОГО ПРОЦЕССА, ФОРМИРОВАНИЯ ЛИСТОВОЙ ПОВЕРХНОСТИ И СОДЕРЖАНИЯ ПИГМЕНТОВ У ОВСА ПОСЕВНОГО

Varietal specificity in production process, formation of leaf area and pigment content in oat

Смирнова Э.А., Бахтенко Е.Ю.

ФБГОУ ВПО Вологодский государственный университет, Вологда, Россия
lina-smirnova35@yandex.ru; bakhtenko@yandex.ru

Изучение закономерностей, определяющих продуктивность зерновых культур, является одной из актуальных проблем частной физиологии, имеющих непосредственное отношение к практическим задачам растениеводства и селекции. Физиолого-биохимические и генотипические особенности сорта определяют формирование продуктивности сельскохозяйственной культуры.

Целью исследования являлось изучение особенностей продукционного процесса сортов овса посевного *Avena sativa* L. трех вариаций: var. *mutica* (сорта *Аргамак*, *Margam*, *ОМ 1621*); var. *aurea* (сорт *Borrus*); var. *Krausei* (сорт *Webster*). Исследования проводились в 2009-2012 гг. в лаборатории физиологии растений и на учебно-опытном поле университета. Объектами исследования являлись сорта *Avena sativa* L. из коллекции ГНУ ВНИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова РАСХН. Растения выращивали в условиях полевого мелкоделяночного опыта. Определяли площадь и индекс листовой поверхности, поверхностную плотность и удельную поверхность листьев, относительную массу и площадь листьев, чистую продуктивность фотосинтеза, содержание пигментов и хлорофилльный индекс, содержание свободных форм фитогормонов (АБК, ИУК, ЦК), продуктивность и ее элементы, биохимический состав зерна.

Для сортов var. *mutica* (*Аргамак*, *Margam, ОМ 1621*) был характерен наибольший листовой индекс и относительная площадь листьев, что связано с более высокой кустистостью и облиственностью растений. Специфичность показателей листовой поверхности сортов var. *mutica* может быть обусловлена относительно высокой концентрацией цитокининов в листьях. Сорта var. *aurea* (*Borrus*) и var. *Krausei* (*Webster*) отличались наименьшим листовым индексом, относительной массой и площадью листьев. Это проявлялось на фоне относительно низкого содержания цитокининов в листьях, малой облиственности, узколистности сорта *Webster* и быстрого отмирания листьев у сорта *Borrus* после выметывания метелок.

Максимальная чистая продуктивность фотосинтеза у большинства исследованных сортов наблюдалась в период кущение – выход в трубку, у сорта *ОМ 1621* – в период выход в трубку – колошение. Наибольшей чистой продуктивностью фотосинтеза характеризовался с. *Webster*, что возможно связано с низкими значениями индекса листовой поверхности.

Наибольшим суммарным содержанием хлорофиллов отличались сорта var. *mutica* (*Аргамак*, *ОМ 1621*). Относительно высокие значения хлорофилльного индекса в среднем по годам и фазам имел с. *ОМ 1621*, что связано с высоким содержанием зеленых пигментов в листьях и их большей массой у растений данного сорта. Наибольшая зерновая продуктивность наблюдалась у районированных сортов овса *Аргамак* и *Borrus*, наименьшая – у сортов *Margam* и *ОМ 1621.* Высокий урожай надземной биомассы формировали сорта *ОМ 1621* и *Аргамак*.

Выявлены отличия между сортами по формированию элементов продуктивности. Наибольшая общая и продуктивная кустистость была характерна для сортов *Margam* и *Webster.* Районированные сорта овса (*Аргамак* и *Borrus*) имели наибольшие уборочные индексы. Сорта овса с быстрым темпом роста и большой вегетативной массой (*Margam* и *ОМ 1621*) обладали наиболее низкими значениями $К_{хоз}$.

Более высокая озерненность установлена для районированных сортов. Наибольшие значения массы 1000 зерен имел сорт *Webster*, средние – сорта *Аргамак*, *Borrus*, *Margam* и *ОМ 1621.* Проявилась взаимосвязь массы 1000 зерен и озерненности метелки. Так, у сортов *Аргамак* и *Borrus* наблюдалась высокая озерненность растения и средняя масса 1000 зерен, для сортов *ОМ 1621* и *Webster* была характерна самая низкая озерненность метелки при относительно высокой массе 1000 зерен. Сорт *Margam* при средней озерненности и низкой массе 1000 зерен имел низкий хозяйственный урожай.

Наилучшим качеством зерна отличались сорта *Аргамак* и *Webster.*

Таким образом, установлена сортовая специфичность роста и развития овса. Выявлены сорта, характеризующиеся в конкретных климатических условиях ценными селекционными признаками. Так, районированные сорта *Аргамак* и *Borrus* имеют наиболее высокую зерновую продуктивность. Сорта var. *mutica* (*ОМ 1621*, *Аргамак* и *Margam*) отличаются высокими темпами роста и формируют наибольший биологический урожай. Сорт *Webster* характеризуется высоким значением такого хозяйственно ценного признака, как масса 1000 зерен.

ФОТОСИНТЕЗ В СЕМЕНАХ ХЛОРОЭМБРИОФИТОВ

Photosynthesis in chloroembryos

Смоликова Г.Н.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург; Россия
galina.smolikova@gmail.com

В зависимости от наличия или отсутствия хлорофиллов в зародыше покрытосеменные растения делят на хлороэмбриофиты и лейкоэмбриофиты (Yakovlev, Zhukova, 1975; Periasamy et al., 1986; Puthur et al., 2013). Синтез хлорофиллов в семенах *хлороэмбриофитов* начинается уже на стадии глобулы, постоянно растет по мере формирования зародыша и резко снижается после созревания семени (Puthur, Saradhi, 2004). Состав пигментов зависит от стадии зрелости семян. Формирующиеся семена содержат Хл *a*, Хл *b*, феофитин *a* и феофитин *b*, а также в минорных количествах феофорбид *a*, метилфеофорбид *a* и пирофеофорбид, в то время как созревшие семена содержат только Хл (Ward et al., 1994). Анализ содержания пигментов в зрелых семенах моркови, вики, галеги, рапса, капусты, люпина, кукурузы и сои показал, что во всех образцах присутствуют Хл *a* и *b* в соотношении от 0,5 до 2,4 (Смоликова и др., 2011). В созревающих семенах также содержатся каротиноиды (Кар), которые участвуют в фотосинтезе, выполняя светособирающие и защитные функции, а также являются предшественниками АБК. В зрелых семенах Кар локализуются в пластидах, где способствуют поддержанию структурной целостности мембран и защите от окисления запасных питательных соединений (Смоликова, Медведев, 2015). Отношение Кар / Хл в зрелых семенах находится в обратной зависимости от Хл и варьирует от 0,1 до 9,5 (Смоликова и др., 2011).

Показано, что семена хлороэмбриофитов содержат фотохимически активные хлоропласты, которые обладают способностью к фотосинтезу (Ruuska et al., 2004; Puthur et al., 2013). Все основные фотосинтетические комплексы хлоропластов (ФС II, ФС I и их антенные комплексы, комплекс цитохромов *b6f* и АТФ-синтаза) присутствуют в необходимой стехиометрии и приспособлены к функционированию в условиях низкой освещенности (Asokanthan et al., 1997; Ruuska et. al. 2004; Puthur et al., 2013; Allorent et al., 2015). Из-за экранирования покровными тканями к зародышу проникает, в основном, красная и дальняя красная часть спектра солнечного света. Поэтому в семенах хлороэмбриофитов активность ФС I выше, чем активность ФС II. С использованием модулирующего импульсного флуориметра (Heinz Walz Gmbh, Germany) нами проведена оценка активности ФС II в стенках плодов, тесты и семядолях *Brassica nigra* L. на разных стадиях созревания (неопубликованные данные). Установлено, что способностью к фотосинтезу обладают не только зародыш, но также ткани плодов и тесты. Причем на ранних стадиях созревания семян активность ФС II выше в тканях плодов, на средних стадиях – в тесте и на более поздних стадиях - в семядолях.

Главное отличие «темновых» реакций фотосинтеза у формирующихся семян заключается в том, что основным источником углерода является не CO_2 воздуха, а сахароза, поступающая из материнского растения (Asokanthan et al., 1997; Ruuska et al., 2004). Исходя из этого, основная функция хлоропластов семян заключается в генерации НАДФН и АТФ, которые расходуются на превращение сахарозы в жирные кислоты и крахмал (Ruuska et al., 2004; Allen et al., 2009). Такой тип углеродного метаболизма послужил основанием назвать хлоропласты семян *фотогетеротрофными*. Однако при образовании ацетил-CoA из пирувата происходит выделение CO_2, что может вызывать подкисление цитозоля и снижать скорость фотосинтеза. Поэтому в семенах функционирует система повторной фиксации CO_2, о чем свидетельствует высокая активность РуБисКО (Ruuska et al., 2004) и фосфоенолпируваткарбоксилазы (King et al.,1998). Немаловажно также, что в процессе фотосинтеза происходит выделение кислорода, что предотвращает развитие гипоксии и поддерживает митохондриальное дыхание (Weber et al. 2005; Borisjuk, Rolletschek, 2009; Tschiersch et al., 2011).

На поздних стадиях созревания семена переходят в состояние покоя, что сопровождается обезвоживанием, распадом фотосинтетического аппарата, деградацией Хл и превращением хлоропластов в пластиды, заполненные запасными питательными веществами. Известно, что все эти процессы находятся под контролем АБК-зависимого фактора транскрипции ABI3 (Clerkx et al, 2003; Delmas et al., 2013). Однако часто Хл разрушаются не полностью. Причиной может являться генетическая гетерогенность семян, условия внешней среды и местонахождение на материнском растении (Батыгина, 2000; Matilla et al., 2005). Эволюционно присутствие Хл в зрелых семенах может быть обусловлено необходимостью их быстрой мобилизации при прорастании. Однако оказалось, что это приводит к существенному снижению устойчивости семян к стрессовым условиям (Jalink et al., 1998; Suhartonto, 2002; Смоликова и др., 2011). Хл являются мощными фотосенсибилизаторами и их электроны легко переходят в возбужденное состояние при попадании даже небольших количеств квантов света. Энергия возбужденных электронов обычно рассеивается в виде флуоресценции, в виде тепла или путем фотохимического гашения. Однако в семенах с разрушенными тилакоидными мембранами фотохимического гашения не происходит, поэтому велика вероятность акцептирования возбужденных электронов кислородом с образованием АФК и усилением окислительного стресса.

Работа выполнена с использованием оборудования РЦ СПбГУ «Развитие молекулярных и клеточных технологий» за счет средств НИР СПбГУ № 1.38.233.2014 и гранта РФФИ № 14-04-01-624.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ В СЕЛЕКЦИИ ГОРОХА

Use of biotechnological methods in the pea breeding

Соболева Г.В.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно–исследовательский институт зернобобовых и крупяных культур, Орел, Россия; alniksobolev@rambler.ru

Селекция гороха, ведущей зернобобовой культуры в Российской Федерации, в последние годы ориентирована на создание безлисточковых (усатых) морфотипов, так как свойственная им повышенная устойчивость к полеганию обеспечивает преимущество в агроценозах по сравнению с другими формами. Однако видоизменение листочков в усики привело к снижению толерантности растений к стрессовым воздействиям среды, в частности к почвенной и воздушной засухе. Анализ метеорологических данных за последние десятилетия свидетельствует о повышении среднегодовых температур и участившихся засухах. По прогнозам периодичность повторения засух по годам будет только усиливаться. Между тем, условия увлажнения являются решающим фактором, определяющим формирование сортами гороха высоких урожаев. Сложности классической селекции на засухоустойчивость обусловлены тем, что это комплексный полигенный признак. В связи с этим для успешной работы по созданию новых сортов гороха необходимо наряду с традиционными, активно вовлекать в процесс селекции современные инновационные методы, в частности, клеточную селекцию *in vitro*. Цель нашей работы заключалась в разработке селективной системы *in vitro* для отбора генотипов устойчивых к засухе.

В результате проведенных исследований определены основные параметры, связанные с отбором *in vitro* осмоустойчивых вариантов включающие: индукцию каллусообразования, отбор осмоустойчивых каллусов на селективных средах, индукцию морфогенеза в отселектированных каллусах, регенерацию растений, адаптацию их к условиям in vivo, получение семенного потомства и его тестирование на устойчивость к засухе. В качестве факторов имитирующих *in vitro* осмотический стресс использовали ПЭГ с молекулярной массой 6000 и оксипролин. Установлено, что данные вещества могут быть использованы для тестирования генотипов на осмоустойчивость на уровне каллусных культур. Но оксипролин, как селективный агент оказывает более жесткое давление и понижает способность каллусных тканей к морфогенезу и регенерации побегов. Регенерацию побегов из отселектированных каллусов осуществляли на средах без селективного фактора. Индукцию ризогенеза у регенерантных побегов проводили *in vitro* на питательных средах. Выявлено, что для оценки *in vitro* устойчивости генотипов гороха к водному дефициту целесообразно использовать такие показатели как относительный прирост каллусов и способность к образованию побегов.

Потомство полученных после клеточной селекции регенерантов анализировали на устойчивость к засухе с помощью физиологических тестов. Установлено, что по таким показателям как водоудерживающая способность и общее содержание воды в тканях большая часть регенерантов гороха была более устойчива к дефициту влаги, чем исходные генотипы. При этом регенерантные линии, полученные из каллусных культур, резистентных к действию оксипролина, характеризовались более высокой способностью удерживать воду в процессе завядания в сравнении с контролем и линиями отселектированными на средах с ПЭГ. Установлено, что в условиях почвенной засухи у регенерантов происходит увеличение доли рабочей адсорбирующей поверхности корневой системы. Выявлено, что потомство (R_5-R_6) большинства регенерантных линий гороха сохраняет повышенную устойчивость к водному стрессу.

Регенерантные линии были размножены и изучались в течение ряда лет в полевом опыте на делянках 7,5м^2 в 4-х кратной повторности. Структурный анализ растений регенерантных линий показал значительное варьирование по комплексу основных показателей продуктивности. По длине стебля практически все регенерантные линии оказались более короткостебельными в сравнении с исходными генотипами и контролем. Выделены регенерантные линии гороха достоверно превосходящие оригинальные сорта и контроль по основным хозяйственно-значимым показателям: числу бобов и семян с растения, продуктивности одного растения, массе 1000 семян, урожайности семян и содержанию белка в семенах и зеленой массе.

Таким образом, проведенные исследования показали, что методы клеточной селекции могут быть использованы для получения засухоустойчивых вариантов гороха. В результате получены перспективные для селекции засухоустойчивые регенерантные линии гороха с урожайностью семян 3,5-4,0 т/га.

УЧАСТИЕ АССОЦИАТИВНЫХ БАКТЕРИЙ В ПРОЦЕССАХ РОСТА РАСТЕНИЙ И ТРАНСФОРМАЦИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА ТЕХНОГЕНО-ЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВАХ

Participation of associative bacteria in the growth of plants and heavy metals transformations on polluted soils

Соколова М.Г.[1], Белоголова Г.А.[2], Акимова Г.П.[1]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия; SokolovaMG@sifibr.irk.ru*

[2] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт геохимии им. А. П. Виноградова СО РАН, Иркутск, Россия; gabel@igc.irk.ru*

Многие микроорганизмы обладают высокой устойчивостью к тяжелым металлам, а инокуляция полезными ризосферными бактриями даже может повышать устойчивость растения к биотическим и абиотическим стрессам. Однако влияние микроорганизмов на процессы роста на техногенно-загрязненных почвах и трансформации тяжелых металлов в ризосфере и аккумуляции растениями изучены крайне недостаточно.

Исследованы особенности влияния ассоциативных ризосферных микроорганизмов *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus megaterium* и *Bacillus mucilaginosus* на рост и развитие различных растений: на примере двудольных - гороха (*Pisum sativum* L.) и однодольных - овса (*Avena sativa* L.), в зависимости от произрастания их на техногенных почвах разного уровня загрязнения, а также распределение тяжелых металлов (Pb, Cd, Co, Ni,) и As, в системе «почва-растение». Показано отличие в воздействии ризосферных бактерий на морфогенез растений и мобилизацию тяжелых металлов при разной техногенной нагрузке.

Рассчитан коэффициент биологического накопления химических элементов, снижающийся при бактеризации техногенной почвы. Установлено, что снижение подвижности тяжелых металлов и мышьяка при бактеризации, происходит за счет образования органических хелатных форм под влиянием ризосферных бактерий *Azotobacter* и *Bacillus* на техногенно загрязненной почве, которые создают барьер для поступления их в растения. При этом наблюдали незначительное накопление тяжелых металлов и мышьяка в растениях при бактеризации почв фонового участка. На сильно загрязненных почвах с высоким содержаниям токсикантов активно происходили процессы их связывания и стабилизации главным образом в ризосфере растений и ризосферной части почвы, чему способствуют ризобактерии.

Показано, что биосорбция тяжелых металлов происходила более интенсивно в корнях, чем в надземной части. Подвижность элементов была в корнях выше у растений гороха, чем овса в контрольном варианте без обработки ризобактериями. При бактеризации коэффициент биологического накопления снижался у обоих растений, но в большей степени у гороха. Ризобактерии способствовали связыванию избытка токсических элементов на загрязненном участке и, особенно, у бобовых растений, в частности у гороха. Возможно, это обусловлено тем, что бобовые культуры находятся в естественном природном симбиозе с клубеньковыми бактериями, присутствующими в почве. Поэтому дополнительное внесение ризобактерий при инокуляции почвы, может вызывать синергический эффект, который усиливает связывание избытка токсикантов. Можно предположить, что бобовые культуры за счет этого имеют лучшую способность к выживанию в условиях загрязненных токсикантами почв.

Исследования позволили выявить, что ризобактерии существенно влияют на рост и миграцию тяжелых металлов в растение, что может иметь практическое значение при использовании бактериальных биотехнологий в агропроизводстве на загрязненных почвах и представляет существенный фундаментальный интерес для выяснения механизмов функционирования и адаптации фито-микробных систем в стрессовых условиях.

ЭФФЕКТ КРИОСОХРАНЕНИЯ И ПРИРОДНЫХ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ НА ГЕНЕТИЧЕСКУЮ СТАБИЛЬНОСТЬ *IN VITRO* РАСТЕНИЙ *FRAGARIA VESCA*

Effect of cryopreservation and abiotic stressors on genetic stability of *Fragaria vesca in vitro* plants

Соловьева А.И., Высоцкая О.Н., Долгих Ю.И.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; slvjova.aleksandra@rambler.ru

Сохранение биологического разнообразия – одна из приоритетных задач настоящего времени. Для ее решения используют две базовые стратегии: *in situ* и *ex situ*, которые дополняют друг друга. Стратегия *in situ* подразумевает подержание компонентов биологического разнообразия в естественных местах обитания. Тем не менее, в природных условиях растительный организм часто испытывает влияние целого ряда стрессовых факторов, в частности, повышенной температуры и интенсивного освещения, что может приводить к повреждениям генома. Стратегия *ex situ* подразумевает сохранение растительного материала в различных коллекциях. Использование технологии культивирования тканей и органов растений *in vitro* существенно расширяет возможности этой стратегии. Вместе с тем при длительном поддержании коллекций *in vitro* могут возникать сомаклональные варианты, так же существует риск потери ценных образцов в результате инфицирования и ошибок оператора. Современные технологии замораживания растительного материала в жидком азоте, позволяют снизить до минимума вероятность потери ценных образцов и сократить материальные затраты на поддержание коллекций. Метод криосохранения тканей и органов растений, культивируемых *in vitro*, основанный на дегидратации растительного материала в потоке воздуха, позволяет отказаться от применения дорогостоящего программного оборудования. Кроме того, в протоколах данного метода не используют токсичные криопротекторы подобные ДМСО, которые способны вызывать генетические изменения. Однако риск появления мутаций после данной процедуры все же существует, поскольку растительный материал подвергается действию сильных стрессов. В связи с этим необходимо оценивать степень риска появления отклонений у коллекционных растений под действием природных стрессовых факторов и криосохранения.

Цель работы состояла в изучении степени воздействия криосохранения методом предкультивирования-дегидратации и природных стрессовых факторов: 1) повышенной температуры и 2) интенсивного освещения, на стабильность *in vitro* растений *Fragaria vesca*.

Исследование было выполнено на растениях клона *Fragaria vesca*, культивируемых *in vitro* в течение 25 лет. Для обнаружения возможных изменений последовательностей ДНК, применяли RAPD, ISSR и REMAP методы, позволяющие изучить различные участки генома, в том числе наиболее вариабельные повторяющиеся последовательности. Каждое растение анализировали индивидуально. Пробы листьев отбирали с каждого растения после закаливания и с тех же растений, которые были восстановлены после дегидратации и замораживания апексов в жидком азоте. При оценке влияния интенсивного освещения и повышенной температуры на изменчивость генома пробы листьев отбирали аналогично: до и после стрессового воздействия.

Согласно результатам ПЦР-анализа растения, принадлежащие длительно поддерживаемому *in vitro* клону *F. vesca*, имели некоторую генетическую вариабельность: доля полиморфных фрагментов составила 9.1%. Это подтверждает возможность появления изменений в геноме растений при долговременном культивировании коллекций *in vitro*.

Как показал анализ проб ДНК листьев растений, восстановленных после криосохранения, только в одной отсутствовал один REMAP-фрагмент. Полиморфизм по данному фрагменту не был выявлен у тестированных растений, не подвергавшихся дополнительным воздействиям. Поэтому данное изменение, вероятно, было вызвано стрессом, который испытывали растительные клетки во время процедуры криосохранения. Однако зарегистрированная частота появления изменений была очень низкой - 0.9%. Большее влияние стресса, вызванного дегидратацией объектов в сочетании с замораживанием в жидком азоте, проявилось в двукратном сокращении доли полиморфных ДНК-маркеров.

На следующем этапе исследования у проанализированных образцов ДНК листьев, отобранных через месяц после воздействия 1) повышенной температурой; 2) интенсивного освещения, не было зарегистрировано появления новых ДНК-маркеров. Между ДНК-профилями проб с одних и тех же растений, отобранных до и после стресса присутствовали минимальные различия, выражавшиеся в отсутствии одного из ДНК-фрагментов, амплифицированных с различными праймерами.

Таким образом, изученные стрессовые воздействия, по всей видимости, не увеличивают уровень изменчивости культивируемых растений.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований (грант №14-04-31615).

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ АДАПТАЦИИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ЭПИЛИТНЫХ ЛИШАЙНИКОВ К УСЛОВИЯМ ПОБЕРЕЖИЙ БЕЛОГО И БАРЕНЦЕВА МОРЕЙ

Functional adaptations of photosy nthetic apparatus of epilithic lichens to conditions of the White and Barents Seas coasts

Сонина А.В.[1], Марковская Е.Ф.[1], Кособрюхов А.А.[2]

ФГБОУ ВПО «Петрозаводский государственный университет», Петрозаводск, Россия
angellasonina @mail.ru, volev10@mail.ru
ФГУН Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, Россия; kosobr@rambler.ru

В настоящей работе представлены результаты по содержанию фотосинтетических пигментов и интенсивности фотосинтеза видов эпилитных лишайников с побережий Белого моря *(Umbilicaria deusta, Umbilicaria torrefacta, Physcia caesia* и *Rusavskia elegans)* и Баренцева моря *(Physcia caesia, Protoparmelia nephaea, Pseudephebe pubescens, Umbilicaria arctica, Umbilicaria torrefacta, Caloplaca marina, Lecanora polytropa)*. Все исследованный виды обитают в условиях супралиторали, имеют накипные - *Protoparmelia nephaea, Caloplaca marina, Lecanora polytropa,* листоватые - *Physcia caesia, Rusavskia elegans, Umbilicaria deusta, Umbilicaria torrefacta* и кустистые - *Pseudephebe pubescens* биоморфы. Фотобионтом у большинства видов являются зеленые водоросли рода Trebouxia, у *Pseudephebe pubescens* - одноклеточные зеленые коккоидные водоросли.

Анализ фотосинтетических пигментов (методом экстракции) показал, что диапазон варьирования суммы хлорофиллов у исследованных видов в прибрежных экотопах Белого моря составляет от 0,16 до 1,03 мг· $г^{-1}$ сухой массы, а каротиноидов от 0,10 до 0,33 мг· $г^{-1}$сухой массы. Наиболее контрастные значения получены по соотношению хлорофиллов к каротиноидам. Низкие значения соотношения отмечены у двух видов **-***Rusavskia elegans и Physcia caesia,* что связано с относительно высокими значениями содержания каротиноидов. У двух видов *(Umbilicaria torrefacta, Umbilicaria deusta)* не выявлено различий в содержании хлорофилла *a* - основного пигмента реакционного центра фотосинтетического аппарата, однако содержание хлорофилла *b* и каротиноидов различаются существенно, что привело к большим различиям и по соотношению хлорофиллов к каротиноидам, Это может свидетельствовать об изменении объема их светособирающих комплексов (ССК). Наиболее низкие значения по содержанию как хлорофиллов, так и каротиноидов получены у вида *Physcia caesia,* хотя все расчетные характеристики (соотношения пигментов) говорят о функциональной активности его пигментного аппарата. Для вида *Rusavskia elegans* были проведены исследования и на талломах, обитающих на стенах Соловецкого монастыря разной экспозиции, где изучалось содержание пигментов и интенсивность фотосинтеза с использованием электрода Кларка. При расчете только на автотрофный компонент у этого вида оказалось, что содержание суммы хлорофиллов варьирует от 0,39 до 2,34 мг/л, а каротиноидов от 0,95 до 3,57 мг/л. Соотношение хлорофиллов изменялось от 0,4 до 0,6, хлорофиллов к каротиноидам **-** от 0,17 до 3,1, значения интенсивности фотосинтеза - от 0,4 до 16,8 мкмоль/(мг хл · ч). Сопоставление этих данных с данными по содержанию пигментов при расчете на массу таллома показало, что диапазон варьирования при расчете на фотобионт возрастает (в 2-3 раза), что свидетельствует о высокой функциональной изменчивости фотобионта (по-видимому, значительно большей, чем микобионта) в зависимости от условий обитания и о высоком уровне его пластичности (как по содержанию пигментов, так и по интенсивности фотосинтеза). Прямой связи между количеством хлорофиллов, каротиноидов и интенсивностью фотосинтеза не было выявлено. Исследование интенсивности фотосинтеза лишайников на побережье Баренцева моря показало, что у исследованных видов она изменяется в диапазоне от 0,39 до 0,96 мкмоль O_2/(мг хл · ч). Наибольшие значения были получены для *Umbilicaria torrefacta* (0,96 мкмоль O_2/(мг хл · ч)) и *Physcia caesia* (0,72 мкмоль O_2/(мг хл · ч)), средние значения у *Pseudephebe pubescens, Caloplaca marina* (0,52 и 0,58 мкмоль O_2/(мг хл · ч), соответственно) и низкие у *Protoparmelia nephaea, Umbilicaria arctica* и *Lecanora polytropa* (0,39; 0,35 и 0,39 мкмоль O_2/(мг хл · ч), соответственно). Зависимости интенсивности фотосинтеза от типа таллома не было выявлено: так, лишайники с листоватым умбиликатным типом имели и самые высокие значения интенсивности фотосинтеза *(Umbilicaria torrefacta),* и наименьшие *(Umbilicaria arctica)*. Не выявлено зависимости интенсивности фотосинтеза и от принадлежности к определенному роду как микобионта - два вида рода *Umbilicaria* имели разные значения интенсивности фотосинтеза, так и фотобионта: *Pseudephebe pubescens* имеет в качестве фотобионта зеленые коккоидные водоросли, у остальных видов фотобионт - виды рода *Trebouxia.*

Исследование физиологических показателей у прибрежных эпилитных лишайников показало, что в адаптации к экологическим условиям местообитания этого симбиотического организма ведущая роль отводится фотобионту - фотосинтезирующему организму. На примере *Rusavskia elegans* косвенно удалось показать, что степень пластичности фотобионта включает очень широкий диапазон варьирования как хлорофиллов, так и каротиноидов. Высокий уровень изменчивости фотобионта позволяет в целом организму быть устойчивым в широком диапазоне условий. Встает вопрос о микобионте и его роли в этих адаптивных изменениях.

САЙЛЕНСИНГ ГЕНА АНИОННОЙ ПЕРОКСИДАЗЫ КАРТОФЕЛЯ ИЗМЕНЯЕТ РЕГУЛЯЦИЮ АКТИВНОСТИ ЗАЩИТНЫХ ГЕНОВ ПРИ ПАТОГЕНЕЗЕ

RNA-silencing of potato anionic peroxidase gene altered the regulation of transcriptional activity of the defence genes during pathogenesis

Сорокань А.В., Бурханова Г.Ф., Кулуев Б.Р., Максимов И.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимкого научного центра РАН, Уфа, Башкортостан, Россия; fourtyanns@googlemail.com

Неоднократно показано участие пероксидаз в устойчивости растений к различным стрессовым факторам. Однако в связи с представленностьюпероксидазы множеством изоформ, кодируемыхмультигенным семейством, трудно четко выделить конкретный продукт конкретного гена. Это еще больше усложняется наличием процессов посттранскрипционных модификаций генов, кодирующих этот фермент, и последующих посттрансляционные изменений в структуре самого продукта. Тем не менее, анализ роли отдельных изоферментов необходим для выяснения их роли и использования в селекционной работе. Основываясь на имеющихся данных о возможности изучения роли того или иного гена пероксидазы в морфолого-физиологических процессах в растении с помощью антисмысловых РНК мы получили генно-инженерную антисмысловую конструкцию гена *M21334* одной из изопероксидаз картофеля, транскрипцию которого ранее мы наблюдали в условиях воздействия на растения сигнальных молекул и рост-стимулирующих микроорганизмов.

В экспериментах использовались стерильные пробирочные растения картофеля устойчивого к фитофторозу сорта Невский, и полученной на его основе линии 4р с подавленной экспрессией гена анионной пероксидазы. Растения 30 сут культивировали на средах с добавлением 0,1 мкМ жасмоновой (ЖК) или 1 мкМ салициловой (СК) кислот,либо инокулировалиэндофитной бактерией *Bacillus subtilis* 26Д, затем контрольные и обработанные растения заражали нанесением на каждый лист по 5 мкл суспензии зооспор патогена *Phitophthora infestans* (10^5 спор/мл). Визуальные симптомы болезни наблюдали оценивали по % площади поражения к площади листовой пластинки. Тотальную РНК выделяли с помощью реактива Тризол (MolecularResearchCenter, Inc, США), согласно протоколу фирмы-поставщика. Синтез кДНК, на основе мРНК проводили с использованием праймеров и фермента M-MLV обратной транскриптазы по протоколу фирмы-поставщика (Fermentas, США). кДНК использовали в реакции амплификации с праймерами к генам анионной пероксидазы картофеля *M21334*, защитных патоген-индуцируемых белков *PR-1* (СК-чувствительный) и P*R-6* (ЖК-чувствительный).

Обнаружено, что наименьшее проявление симптомов фитофтороза наблюдалось в растениях дикого типа, обработанных суспензией клеток штаммом *Bacillus subtilis* 26Д и жасмоновой кислоты (ЖК), действие салициловой кислоты (СК) было менее заметно. В тех же условиях растения линии 4р характеризовались заметно высокой степенью восприимчивости к фитофторозу. При этом было обнаружено, что если в растениях дикого типа воздействие жасмоната увеличивало устойчивость к возбудителю этого заболевания, то в трансформированных растениях этот эффект ЖК практически отсутствовал. Характерно и то, что под действием СК снижение степени устойчивости в растениях линии 4р было менее заметно. На листьях растений, обработанных бактериальной суспензией, симптомы по площади приближались к контрольному варианту без обработок. Цитохимическое исследование показало, что растения линии 4р характеризуются меньшей, по сравнению с растениями дикого типа, автофлуоресценцией лигнина в местах внедрения патогена.

Анализ транскрипционной активности гена *M21334*врастениях дикого типа ген показал похожий на динамику экспрессии ЖК- и патоген чувствительного гена PR-6. В то же время, в растениях линии 4р транскрипционная активность этих генов при инфицировании, напротив, снижалась относительно соответст-вующего контроля. Обработка растений линии 4р бактериальной суспензией либо СК препятствовала драматическому снижению транскрипционной активности отмеченных защитных генов после инфицирования патогеном.

Таким образом, активное развитие возбудителя фитофтороза *P. infestans* на растениях картофеля с подавленной активностью анионной пероксидазы связано с недостаточной лигнификацией клеточных стенок в местах внедрения патогена. Кроме того, в инфицированных линиях не наблюдается индуцированного патогеном подъема уровня транскрипции двух ЖК-зависимых генов – *M21334* и *PR-6*. На фоне пониженного уровня пероксида водорода – важного сигнального соединенияжасмонатного сигнального пути, снижение процессов лигнификации позволяют объяснить роль одного из изопероксидаз в процессах эффективного формирования фитоиммунитета. Частичное восстановление защитных систем в растениях этой линии под влиянием СК предполагают запуск салицилат-зависимых защитных процессов, хотя и менее «действенных» против возбудителя фитофтороза. Наблюдаемая под действием *B. subtilis* 26Д устойчивость растений в этих условиях может быть связана и с прямым антибиотическим действием данной эндофитной культуры, и непосредственным воздействием на ряд сигнальных систем хозяина.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и наукиРФ по Соглашению № 14.604.21.0016, уникальный идентификатор ПНИ -RFMEFI60414X0016.

РОЛЬ ЗЕАКСАНТИНА В ТУШЕНИИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА В ФС II *EPHEDRA MONOSPERMA* ПРИ ПЕРЕХОДЕ ИЗ ВЕГЕТИРУЮЩЕГО В МОРОЗОУСТОЙЧИВОЕ СОСТОЯНИЕ

Role of zeaxanthin in the quenching of chlorophyll fluorescence in PS II during transition of *Ephedra monosperma* from vegetative to frost-resistant state

Софронова В.Е,[1]., Дымова О.В.[2], Головко Т.К.[2].

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологических проблем криолитозоны Сибирского отделения Российской академии наук, Якутск, Россия; vse07_53@mail.ru*

[2] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, Сыктывкар, Россия; dymovao@ib.komisc.ru*

Тушение избыточно поглощенной энергии в ФС II при переходе вечнозеленых растений из вегетирующего в морозоустойчивое состояние обусловлено участием энергизационного (*qE*) и фотоингибиторного (*qI*) компонентов нефотохимического тушения (NPQ) флуоресценции хлорофилла (Фл Хл). *qE* развивается в секундном и минутном временно́м диапазоне при понижении pH люмена тилакоидов, связанного с ним протонирования PsbS белка и деэпоксидации виолаксантина в зеаксантин (Зеа). В стрессовых условиях, когда быстрые фотозащитные процессы не обеспечивают в достаточной мере диссипацию энергии в ФС II, происходит постепенное развитие компонента *qI*, который в отличие от *qE* представляет не регулируемые светом и pH механизмы диссипации избыточной энергии в реакционных центрах (РЦ) и светособирающих комплексах (ССК) ФС II. Виолаксантиновый цикл (ВКЦ) участвует в развитии обоих компонент тушения, имеющих место в ССК. Мы исследовали сезонную динамику *qE* и *qI* в ассимилирующих побегах вечнозеленого кустарничка эфедры односемянной при формировании морозоустойчивого состояния в природных условиях, чтобы выявить температурные диапазоны функционирования этих компонент. Круглосуточно в течение июля – января проводили мониторинг температуры воздуха и интенсивности света с помощью термографа DS 1922L iBitton (Dallas Semiconductor, США) и сенсора LI-190 (LI-COR, США) с интервалом 1 ч и 30 мин соответственно. Параллельно с интервалом 7-10 дней измеряли параметры индуцированной Фл Хл в естественных и лабораторных условиях с помощью полевого многолучевого флуориметра PAM-2500 (Walz, Германия). *qE* оценивали путем регистрации индуктивных кривых *in vivo* с последующей темновой релаксацией. Количественное содержание и качественный состав фотосинтетических пигментов анализировали с помощью ВЭЖХ

Сезонная динамика изменения максимального квантового выхода фотохимического преобразования энергии в ФС II (*F*v/*F*m) показала наличие трех последовательных фаз: 1) медленное снижение с начала сентября до середины третьей декады сентября при уменьшении среднесуточных температуры от 8 до 2...3°C; 2) быстрое падение с конца сентября до начала третьей декады октября при изменении температуры от околонулевых значений до -8...-10°C и 3) стабильно низкие значения с конца октября по январь. По нашему мнению, такая динамика *F*v/*F*m отражает три последовательных этапа изменения состояния пигмент-белковых комплексов ФС II при адаптации растений к низким температурам. Детальный анализ результатов показал, что в течение сентября происходило снижение способности ФС II к развитию энергизационного тушения *qE* за счет функционирования ВКЦ. Это может быть связано с недостаточной активностью альтернативных путей транспорта электронов, ответственных за генерацию транстилакоидного pH на фоне снижения фиксации углерода. Снижение величины F_v/F_m в сентябре сопровождалось увеличением конститутивных потерь энергии ($\varphi_{f,D)}$, селективным снижением максимальной флуоресценции ($F_{m)}$ и транзиторным повышением нулевой (начальной) флуоресценции (F_0). Это указывает на фотоингибирование РЦ ФС II. Вклад ВКЦ в фотоингибиторный компонент нефотохимического тушения на первом этапе снижения F_v/F_m, по видимому, незначителен, так как уровень F_0 не снижался, а долевое содержание Зеа при среднесуточных температурах 7–8°C было довольно низким, около 3%. Во второй фазе снижения F_v/F_m наблюдали одновременное снижение F_0 и F_m, квантового выхода нефотохимического тушения (φ_{NPQ}) и дальнейший рост значений $\varphi_{f,D}$. Данному этапу предшествовало повышение уровня Зеа и Ант к середине октября, когда устанавливались околонулевые температуры. Накопление Зеа происходило при низких положительных температурах, ниже 4...5°C, в результате ингибирования обратной реакции ВКЦ. Очевидно, что роль Зеа в конститутивном тушении энергии в антенном комплексе ФС II становится существенной при снижении температуры до нулевых значений и ниже. В отличие от пигментов ВКЦ, F_0 и *F*m продолжали снижаться с уменьшением температуры до -8...-11°C. При дальнейшем снижении среднесуточной температуры до -15...-23°C величина F_v/F_m не изменялась, оставаясь на уровне 0.32–0.33 с конца октября до середины января. Величины F_m и F_0 в ноябре–январе снижались на 19 и 15% относительно значений начала третьей декады октября, когда температура составляла -7...-10°C. Вероятно, на третьем этапе холодовой адаптации, при понижении температуры до -15...-23°C происходила дальнейшая разборка РЦ и замедление конформационных движений пигмент–белковых макромолекулярных структур в липидной фазе, способствующих созданию выгодных конфигураций для фотоингибиторного тушения с участием Зеа.

ВЛИЯНИЕ НИЗКИХ ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ И ОТРИЦАТЕЛЬНЫХ ТЕМПЕРАТУР НА СОДЕРЖАНИЕ КАРОТИНОИДОВ В ХВОЕ *PINUS SYLVESTRIS* В ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЯКУТИИ

Effects of low positive and negative temperatures on the carotenoids content in the *Pinus sylvestris* needles in Central Yakutia

Софронова В.Е.[1], Чепалов В.А.[1], Дымова О.В.[2], Головко Т.К.[2]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологических проблем криолитозоны Сибирского отделения Российской академии наук, Якутск, Россия; vse07_53@mail.ru*

[2] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, Сыктывкар, Россия; dymovao@ib.komisc.ru*

Каротиноиды играют важную защитную роль, способствуют сохранению фотосинтетического аппарата в неблагоприятных условиях среды. С этих позиций большой интерес представляет выявление сезонных долговременных изменений фонда каротиноидов (Кар), особенно ксантофиллов (Ксант), в хвое вечнозеленых древесных растений. В данной работе представлены результаты изучения динамики содержания и соотношения каротиноидов в хвое первого года жизни растений *Pinus sylvestris* L. в осеннее-зимний период. Деревья сосны возрастом 60–65 лет произрастали в Ботаническом саду ИБПК СО РАН (62°15 с.ш., 129°37 в.д.). С июля по январь проводили круглосуточный мониторинг температуры воздуха и естественного освещения с помощью термографа DS 1922L iBitton ("Dallas Semiconductor", США) и сенсора LI-190 ("LI-COR", США) с интервалом 1 ч и 30 мин соответственно. Качественный состав и содержание фотосинтетических пигментов анализировали с помощью ВЭЖХ. Пробы для анализа отбирали в июле, августе, ноябре, декабре и январе. В сентябре-октябре анализ каротиноидов проводили каждые две недели, в остальное время раз в месяц.

В период формирования морозоустойчивости происходили выраженные изменения в составе Кар. Наиболее значительно, от 10-15 до 170 мМ/М Хл (*a* + *b*), увеличивалось содержание зеаксантина (Зеа). Его вклад в сумму Кар в зимние месяцы был в 8 раз выше, чем в летние месяцы. Существенное накопление Зеа, в результате ингибирования обратной реакции виолаксантинового цикла (ВКЦ) отмечали при снижении среднесуточной температуры от 3-4 до 0°С с конца сентября до середины октября. Средняя ночная температура была на 3-5°С ниже. Известно, что Зеа участвует в нефотохимическом тушении поглощенной энергии в ССК ФСII. При пониженных положительных температурах преобладает энергизационный (*qE*) механизм тушения, с конца сентября при наступлении околонулевых и отрицательных температур – фотоингибиторный (*qI*) механизм. Помимо функций тушения, Зеа, связанный в сайте V1 тримеров LHCIIb, проявляет антиоксидантную активность, предотвращая перекисное окисление липидов в интерфейсе LHCII/липид. Содержание лютеина (Лют) было максимальным зимой и минимальным летом. Зимняя хвоя содержала в 2,3 раза больше Лют, 290 мМ/М Хл (*a* + *b*), чем летняя. Однако сезонные динамики Лют и Зеа заметно различались: Лют увеличивался в течение сентября при снижении среднесуточной температуры от 8...12°С до околонулевых значений, тогда как Зеа возрастал позже в узком диапазоне температуры. Повышенные уровни накопления виолаксантина (Вио) и неоксантина (Нео), до 55 и 49 мМ/М Хл (*a* + *b*), соответственно были выявлены во второй декаде сентября при вариациях естественного освещения в пределах 500...600 мкмоль фотонов/($м^2$ с) и снижении дневной и ночной температур до 5,9 и 2,4°С соответственно. Дальнейшее снижение температуры до нулевых значений, а затем до умеренно отрицательных значений (-7...-10 °С) приводило к резкому уменьшению содержания Вио. Концентрация Нео при околонулевых температурах снижалась почти до летнего уровня, 40 мМ/М Хл (*a* + *b*). Лют, по-видимому, является эффективным тушителем триплетного хлорофилла (^{3}Хл), образующегося в избыточном количестве при пониженных положительных температурах, а Нео активен в нейтрализации супероксид анионов, продуцируемых в реакции Мелера при перевосстановлении акцепторов ФС I и диффундирующих из стромальных мембран к белковым доменам ФС II. Помимо этого, Нео, оккупируя сайт N1 в LHCIIb, повышает эффективность Лют в тушении ^{3}Хл. Молекулы β-каротина необходимы для встраивания белков D1 и D2 в РЦ ФС II и детоксикации $^1O_2^*$ путем его физического тушения или химического скавенгирования. Доля β-Кар летом составляла около 41-43%, а зимой - 16-18% общего фонда Кар. Снижение фонда β-Кар до 24% происходило в диапазоне среднесуточных температур от 8...10°С до наступления устойчивых отрицательных среднесуточных температур. Уменьшение отношения β-Кар/сумма Ксант указывает на предпочтительную утерю числа реакционных центров (РЦ) на ранних этапах фотоингибирования. Этот этап снижения при низких положительных и околонулевых температурах характеризовался увеличением содержания Зеа, транзиторным ростом Вио и Ант – пигментов β-ксантофилловой цепи биосинтеза каротиноидов из β-Кар. Второй этап распада β-Кар, связанный по-видимому, связанный с неферментативным образованием пероксида β-Кар, наблюдали при дальнейшем снижении среднесуточной температуры до -15...-38°С в ноябре-декабре. Таким образом, существенная перестройка фонда каротиноидов в хвое *Pinus sylvestris* свидетельствует об их участии формировании морозоустойчивости и адаптивных реакциях фотосинтетического аппарата в осенне-зимний период.

СТРУКТУРНЫЕ И ХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ЛУБЕ СТВОЛА СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ ПОСЛЕ ЛЕСНОГО ПОЖАРА

Structural and chemical changes in inner bark of *Pinus sylvestris* stem after forest fire

Стасова В.В.[1], Зубарева О.Н.[2], Иванова Г.А.[1]

[1] *Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН, Красноярск, Академгородок, Россия*
[2] *Сибирский государственный технологический университет, Красноярск, Россия*
roman@akadem.ru, zon@ksc.krasn.ru, gaivanova@ksc.krasn.ru

Целью данной работы было изучение изменений флоэмных тканей у деревьев сосны обыкновенной при низовых пожарах различной интенсивности. Исследования проводились в районе Нижнего Приангарья Красноярского края. На экспериментальных участках, пройденных пожарами, были выбраны модельные деревья с зеленой кроной и различной величиной повреждения комля: 1) с обгаром коры комля до 1/3 окружности без повреждения тканей ствола («обгар коры»); 2) с повреждением коры и древесины у комля от 1/3 до 1/2 окружности ствола («одна подсушина»); 3) с повреждением коры и древесины у комля более чем на 1/2 окружности ствола («две подсушины»). Контролем служили деревья из насаждений, прилегающих к экспериментальным участкам и не подвергавшихся воздействию огня. Количество выбранных деревьев в каждой категории составляло от 2 до 4. Возраст всех исследованных деревьев составлял 90-100 лет, средний диаметр 28-32 см. Для изучения анатомического строения проводящих тканей ствола у модельных и контрольных деревьев были взяты образцы луба. Для этого из ствола со стороны, не имеющей нагара, на высоте 1,3 м делали высечки тканей до древесины, отделяли луб от корки и помещали его в 4% водный раствор формалина (Паушева, 1974).

На поперечных срезах луба отмечали морфологические и химические изменения флоэмной ткани. Оценка анатомических характеристик включала: измерение толщины луба, подсчет количества годичных слоев флоэмы от камбия до перидермы и количества клеток в радиальном ряду в последних годичных приростах флоэмы, определение частоты расположения флоэмных лучей и процентного содержания тяжевой паренхимы в трех последних годичных приростах флоэмы. Измерения проводили с использованием светового микроскопа МБИ-15 и окуляр-микрометра. Проводили также гистохимические тесты на содержание лигнина (с флороглюцином), каллозы (с анилиновым голубым), крахмала (с иодом). Микрофотографии получали с помощью цифровой камеры DCM-900 и программы ScopePhoto. Статистическая обработка результатов проведена в программе Microsoft Excel.

Повреждение ствола огнем вызывает значительную изменчивость количественных характеристик луба. При пожаре низкой интенсивности обнаружены изменения толщины луба, количества годичных слоев флоэмы между камбием и перидермой, количества клеток в проводящей части флоэмы. Наибольшие отличия количественных характеристик луба сосны от контроля были выявлены у деревьев с обгаром коры комля, причем эти тенденции сохранялись спустя 8 лет после пожара. После пожара высокой интенсивности в первые годы отмечалась тенденция к увеличению толщины луба при образовании одной огневой раны на дереве и уменьшению при сильном повреждении ствола. Также выявилась тенденция к уменьшению числа годичных слоев флоэмы в лубе с увеличением степени повреждения ствола, а также количества клеток в проводящей флоэме и частоты лучей, при этом содержание в лубе осевой паренхимы увеличивалось. Спустя 8 лет после пожара эти тенденции во многих случаях не выявлялись.

Структура луба контрольных деревьев соответствует типичной структуре, описанной в работах многих авторов (Еремин, 1978; Эзау, 1980; Лотова, 1987; Новицкая и др., 1999). Тепловое воздействие на ткани ствола при прохождении пожара вызвало значительные изменения структуры луба: увеличение размеров клеток осевой паренхимы, расширение флоэмных лучей, образование в их составе дополнительных смоляных ходов и даже смоляных карманов (крупных смоловместилищ), нарушение упорядоченного расположения ситовидных клеток. В случае особо сильного повреждения наблюдался некроз флоэмы с образованием раневой перидермы.

В послепожарный период изменился и химический состав луба. Практически во всех образцах из стволов, подвергавшихся действию огня, обнаружено присутствие лигнина. Судя по его расположению, лигнин появляется в непроводящей флоэме, по-видимому, сразу после термического воздействия. При этом вновь образующиеся слои клеток не содержат лигнина, что дает возможность приблизительной датировки пожара. Количество лигнина зависит как от интенсивности повреждения ствола, так и от индивидуальных особенностей дерева.

Каллоза в норме образуется при переходе проводящей флоэмы в непроводящую и располагается на клеточных стенках ситовидных элементов в 2-3 годичных слоях флоэмы. Затем количество каллозы резко уменьшается и в толще непроводящей флоэмы каллозные бляшки встречаются единично. В послепожарном периоде количество каллозы в непроводящей флоэме, и особенно на границе с проводящей, увеличивается почти у всех деревьев.

Распределение крахмала также имеет свои особенности, определяющиеся как интенсивностью теплового воздействия и его давностью, так и индивидуальными особенностями деревьев.

ТРАНСФОРМАЦИЯ МЕЖМЕТАМЕРНЫХ ОТНОШЕНИЙ В ОНТОГЕНЕЗЕ ПОБЕГА ПШЕНИЦЫ

Transformation of intermetamerous relations in ontogeny of wheat shoot

Степанов С.А.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского», Саратов, Россия
hanin-hariton@yandex.ru

Экспериментальные работы по определению взаимозависимости фотосинтеза и роста, развития растений одновременно стимулировали внимание к фундаментальной проблеме - целостности растения. Разнообразие суждений и мнений по данной проблеме позволяет обратить внимание исследователей на метамерный принцип формирования продуктивности растений. С момента посева и возобновления онтогенеза зародыш пшеницы выступает в качестве сложноорганизованной системой, в которой наиболее дифференцированы проводящие ткани, являющиеся проводниками пластических веществ и биоэлектрических потенциалов. Большее их развитие наблюдается в колептиле и примордии первого листа. Менее развиты проводящие ткани в примордиях второго и третьего листьев и, как показали исследования, их дифференциация прослеживается с момента посева зерновок по мере роста и развития проростков пшеницы. В дальнейшем, по мере морфогенеза листьев отдельных метамеров побега между ними устанавливается определенная последовательность в реализации их морфогенетических характеристик, отражающая эстафетный принцип роста и развития листьев. В частности, как показали исследования, завершение роста первого листа совпадает с ускорением роста третьего, второго - ускорением роста четвертого листа и т.д. В полевых условиях площадь пластинок листьев возрастает от нижних к верхним метамерам побега пшеницы, при этом доля 5-го – 6-го листьев, как правило, больше. Однако меньшая доля площади нижних листьев вовсе не свидетельствует против их особой информационной роли, наряду с субстратной. В частности, при дефолиации первого листа по результатам анализа структуры урожая отмечено формирование популяции растений пшеницы, имеющих по сравнению с контролем разное число листьев на стебле; установлено различие в развитии листьев главного побега, массы боковых побегов, элементов продуктивности колоса. Более того, при анализе развития зародыша зерновок контрольных растений и подвергнутых дефолиации (первый лист), отмечено уменьшение длины примордиев листьев эмбрионального побега.

Полученные нами результаты исследования позволяют обратиться к тем научным представлениям, которые отражают принципы и механизмы, которые обеспечивают функциональное единство частей тела растения. Рассматриваемые в научной литературе концепции целостности можно условно разделить на две основные парадигмы: 1. Растение является организмом. 2. Растение не является организмом, а представляет собой совокупность микроорганизменных экосистем.

На основании изучения морфогенеза пшеницы каждый из метамеров побега предлагается рассматривать как полуавтономную систему. По мере инициации и развития элементов метамеров (узла, междоузлия, листа, почки и придаточных корней), формируются элементы системы управления - рецепторы, пути проведения возбуждения, центральные регулирующие элементы, исполнительные элементы (эффекторы) и элементы обратной связи между рецепторами и эффекторами. Изучение последовательности развития элементов отдельных метамеров (узел лист междоузлие почка корни) позволяет предположить, что центральные регулирующие элементы расположены в узлах стебля пшеницы, детальное изучение которых до сих пор не завершено. Наиболее предпочтительно рассматривать в качестве проводников потенциалов действия такую ткань как склеренхима, клеткам которой свойственна хорошо развитая клеточная стенка.

Как показали анатомические исследования, клетки склеренхимы наблюдаются у пшеницы в бороздке и зародыше зерновки, в зоне нодальной пластинки. При изучении проводящих тканей стебля пшеницы было выявлено, что к отдельным, наиболее дифференцированным проводящим пучкам прилегают волокна склеренхимы, имеющие как правило, хорошо развитую цитоплазму и ядро (одно или несколько). Ранее при исследовании другого объекта (*Populus nervirubens*) было также показано, что волокна и склереиды имеют ядро, их цитоплазма дисперсна по оптической плотности, на некоторых участках к ним примыкают кристаллоносные клетки паренхимы. Все большее число фактов (морфологическое разнообразие клеток, активная цитоплазма, многоядерность, плазмодесмы, специфическая организация клеточной стенки, развитие клеток) позволяют переосмыслить роль склеренхимы в жизнедеятельности растения.

Таким образом, на основании наших исследований и анализа литературы, можно рассматривать метамерный принцип системы регуляции целостности растения как основополагающий принцип в формировании продуктивности растений на примере пшеницы. При сложившихся агроклиматических условиях в онтогенезе пшеницы происходит последовательная трансформация межметамерных отношений в виде сигналов разной природы на различных уровнях организации растения, реализуемая по завершении вегетации в структуре урожая.

ИССЛЕДОВАНИЕ СОЛЕУСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ КАЛЕНДУЛЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ МЕЛАФЕНА

Salt tolerance of calendula affected by melaphen

Стеценко Л.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева РАН, Москва, Россия; larstet@mail.ru

Поиск новых методов повышения устойчивости растений при выращивании в сложных экологических условиях - актуальная задача физиологии растений. В связи с этим представляет интерес испытание нового синтетического регулятора роста растений препарата «Мелафен». Накоплен положительный фактический материал практического применения этого препарата в сельском хозяйстве в сверхнизких концентрациях (10^{-8} М - 10^{-10} М), что уменьшает риск загрязнения окружающей среды и имеет важное экономическое значение.

В данном исследовании предпринята попытка применения мелафена при выращивании растения, используемого в фармакологии. В качестве объекта была выбрана календула лекарственная *(Calendula officinalis* L.) - травянистое однолетнее растение, принадлежащее к семейству астровых (Asteraceae). В работе исследовали устойчивость растений календулы к повышенному засолению при действии мелафена.

Семена календулы проращивали в чашках Петри на увлажненной водой фильтровальной бумаге, затем высевали в перлит. Проростки в фазе двух настоящих листьев переносили в сосуды на водную среду Джонсона и выращивали в камере фитотрона при 12-часовом фотопериоде и температуре 23±1ºС / 16±1ºС (день/ночь). При достижении возраста 4-х недель растения были разделены на 4 группы по 10 растений в каждой: выращиваемые на стандартной питательной среде (контроль), в питательную среду вносили 150 мМ NaCl; в питательную среду вносили 10^{-9} М мелафен, а через 24 ч сутки в те же сосуды вносили 150 мМ NaCl; в питательную среду одновременно вносили 10^{-9} М мелафен и 150 мМ NaCl. Спустя 7 сут экспозиции на указанных средах были измерены морфологические и физиологические параметры растений (прирост биомассы, содержание воды в листьях и др.), часть растительного материала фиксировали в жидком азоте для дальнейшего определения биохимических показателей.

Сравнение морфологических параметров растений выращенных в условиях засоления среды показало, что в присутствии мелафена происходило увеличение длины побега, площади листовой поверхности и оводненность листьев растений по сравнению с вариантом без внесения препарата. Обработку растений мелафеном проводили двумя способами: предварительно до внесения NaCl в питательную среду и при одновременном внесении NaCl и мелафена в питательную среду. Способ внесения препарата незначительно влиял на оводненность листьев. При одновременном внесении NaCl и мелафена в питательную среду отмечали увеличение высоты побега и биомассы растений на 6-7 % по сравнению с предварительным внесением мелафена. Влияние мелафена наиболее значительно проявилось при сравнении показателей окислительного стресса. Содержание малонового диальдегида в листьях растений на среде с 150 мМ NaCl увеличилось в среднем в 7 раз, при предварительном внесении 10-9 М мелафена (до внесения NaCl в питательную среду) - в 7 - 8 раз, а при одновременном внесении 10^{-9} М мелафена и 150 мМ NaCl в питательную среду - в среднем в 4 раза по сравнению с контрольным вариантом. Полученные результаты свидетельствуют, что препарат мелафен в концентрации 10^{-9} М способствовал росту растений, снижению уровня окислительного стресса и выживанию растений календулы в условиях повышенного засоления.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПОТОКОВ УГЛЕРОДА ПРИ ФОРМИРОВАНИИ СТВОЛОВОЙ ДРЕВЕСИНЫ В СОСНОВЫХ ДРЕВОСТОЯХ ЮГА ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ

Allocation of carbon fluxes during the formation of the stem wood in pine stands in the south of East Siberia

Суворова Г.Г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия; suvorova@sifibr.irk.ru

Хвойные древостои, занимающие большую часть лесопокрытой площади регионов азиатской части РФ, являются уникальными регуляторами стока атмосферного углерода. Наше исследование посвящено анализу динамики потоков углерода при формировании стволовой древесины в разновозрастных сосновых древостоях (*Pinus sylvestris* L.) на территории Иркутской области.

Брутто-продукцию (GPP, т/га), затраты стволового дыхания (R, т/га), чистую первичную продукцию надземной массы (NPP_{ag}, т/га) и стволовой древесины (NPP_{st}, т/га) определяли для древостоев четырех групп возраста: молодых (20 лет), средневозрастных (60 лет), приспевающих (100 лет), спелых и перестойных (160 и более лет) со средней высотой 10, 18, 22 и 24 м соответственно с использованием экспериментальных показаний нетто-фотосинтеза и стволового дыхания сосны. В исследовании были использованы материалы лесоустройства и лесотаксационные характеристики сосновых древостоев региона, а также данные об изменении фотосинтетической активности с возрастом дерева.

Установлено, что при средней полноте древостоев региона 0,7, количество деревьев сосны с возрастом снижается от 770 до 299 единиц на гектар, при этом общая площадь поверхности стволов увеличивается в 2 раза. В надземной массе преобладает стволовая древесина, ее доля с возрастом увеличивается от 70 до 88%, доля корневой системы остается практически постоянной, доля остальных фракций биомассы значительно снижается: древесины кроны – с 16 до 8%, хвои и коры ствола – с 13 до 4% и с 13 до 6% соответственно. Текущий прирост надземной массы снижается от 1,96 т/га в молодняках до 0,09 т/га в спелых и перестойных древостоях, при этом доля текущего прироста стволовой древесины остается практически неизменной – около 69% от прироста надземной массы древостоя. Несмотря на снижение фотосинтетической продуктивности с возрастом дерева, значения GPP (т/га) остаются относительно высокими во всех возрастных группах. В высокопродуктивный год GPP возрастает в 2-2,4 раза относительно показаний в засушливый год и в 1,3-1,4 раза относительно показаний в оптимальный, близкий к среднемноголетним по условиям годы. Максимальные годичные дыхательные затраты стволов изменяются в зависимости от возрастного изменения площади поверхности стволов, погодных условий вегетации и обильного плодоношения молодого древостоя на более чем 50% от показаний GPP. Снижение дыхательных затрат с возрастом, рассчитанное пропорционально снижению текущего прироста стволовой древесины, было наибольшим в спелых и перестойных древостоях и составляло 1,0-2,5% от GPP. Рассчитанный для молодого древостоя коэффициент эффективности роста (КЭР), характеризующий долю пластических веществ, использованных на образование стволовой древесины, был наиболее высоким в оптимальный по условиям год (0,48), несколько ниже в засушливый (0,44) и самым низким в высокопродуктивный год (0,35), согласуясь в этом случае с предположением, что пластические вещества в высокопродуктивный год используются для обеспечения обильного цветения и массового формирования молодых стробил.

Расход пластических веществ, использованных для подготовки обильного плодоношения, был рассчитан на основе GPP (т/га) как разность между теоретически ожидаемым и реальным уровнем NPP стволовой древесины в высокопродуктивном году и составил 92% от NPP стволовой древесины в условиях засушливого года. Результаты проведенного исследования свидетельствуют, что при формировании NPP стволовой древесины в молодых древостоях юга Восточной Сибири происходит существенное перераспределение потоков углерода, связанное как с адаптацией к экстремальным условиям почвенной засухи, так и наступлением периода активного плодоношения.

Работа выполнена при поддержке грантов Программы Президиума РАН «Живая природа: современное состояние и проблемы развития» № 30.24 и «Биоразнообразие природных систем» №. 1.29.12.

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЯ МЕЖДУ СОРТАМИ ГРЕЧИХИ РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ ВЫЯВЛЕННЫЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ RAPD МАРКЕРОВ

Phylogenetic relationships among buckwheat accessions of different origin revealed by use of RAPD-markers

Суворова Г.Н.[1], Мартыненко Г.Е.[1], Чаи Ян[2], Зотиков В.И.[1]

[1] Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт зернобобовых и крупяных культур, Орел, Россия; galina@vniizbk.ru
[2] Северо-западный сельскохозяйственный университет, Янлинь, Китай

Гречиха *Fagopyrum esculentum* Moench. относится к перекрестноопыляемым культурам, сорта которой представляют собой иногда достаточно сложные популяции. В связи с этим изучение внутривидового полиморфизма гречихи и выявление генетических различий между сортами различного географического происхождения представляет несомненный интерес для понимания степени дивергенции гречихи в процессе селекции.

В опыт были включены 15 сортов гречихи российской селекции, выведенные в разные годы в основном в Орловской области РФ и 5 сортов китайской селекции происхождением из 2 провинций. Российские сорта отличались друг от друга морфологическими и физиологическими характеристиками. Помимо сортов обычного морфотипа свойственного давним сортам, изучались сорта нового поколения: детерминантные, ограниченно ветвящиеся, узколистные, зеленоцветковые. Все сорта китайской селекции были белоцветковыми и характеризовались обычным типом роста, морфологически при этом не различаясь.

Общую геномную ДНК гречихи выделяли из листочков 5 молодых проростков СТАБ методом с использованием жидкого азота. Реакцию амплификации по следующей программе: 93°-4', 1 цикл; 93°-50", 34°-35", 72°-2', 40 циклов; 72°-5', 1 цикл. Объем реакционной смеси составлял 25 мкл. Реакционная смесь содержала реакционный буфер, 3,5 мМ $MgCl_2$, 0,4 мкМ праймера, 0,25мМ смеси dNTP, 100 нг геномной ДНК и 1 ед. Taq-полимеразы («Силекс»).

Четыре отобранных праймера (OPW02, OPC06, OPD02, OPA11) генерировали в целом 55 фрагментов ДНК, из которых 41 были полиморфными и 14 мономорфными. Коэффициент различий между сортами варьировал в пределах 0,07-0,69. Причем сорта китайского происхождения генетически в большей степени отличались как друг от друга так и от сортов российского происхождения. Дендрограмма показала, что китайские образцы формировали отдельный кластер, за исключением популяции 61/08, которая оказалась в одной группе с сортом TQ 01. Во втором кластере, объединяющем русские сорта, выделены как группы сортов, так и отдельные генотипы. Сорт Сумчанка, первый сорт гречихи с детерминантным типом роста, оказался генетически уникальным и не ассоциировался ни с одной из групп, также как популяции 50/06 (треугольнолистная) и 76/08 (длинные соцветия кисти). Генетически близки друг другу оказались сорта обычного типа Богатырь, Аромат, Калининская. Близко расположены зеленоцветковые популяции гречихи (58/08 и 70/08), также как и детерминантные сорта Девятка и Дождик.

В данном исследовании наблюдается феномен того, что морфологически различные сорта гречихи российской селекции генетически оказались более близки, чем морфологически неразличимые сорта китайского происхождения. Поскольку российские сорта отселектированы в одном географическом регионе, вероятно, их объединяет общность происхождения. В родословной популяции 61/08, которая оказалась в одном кластере с китайскими сортами, возможно, присутствовали китайские образцы. Что касается изученных китайских сортов, то вероятно, их селекция происходила независимо друг от друга.

Для некоторых образцов, в частности, детерминантного сорта Сумчанка, популяций 50/06 и 76/08 получены уникальные RAPD спектры, что позволяет использовать RAPD метод для идентификации сортов гречихи.

ВЛИЯНИЕ ВАРИАБЕЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА НА СОДЕРЖАНИЕ АТФ В ЛИСТЕ ГОРОХА

Influence of variation potential on ATP content in pea leaf

Сурова Л.М., Шерстнева О.Н., Плотникова Ю.И., Сухов В.С.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород, Россия
lyubovsurova@mail.ru

Исследование функциональной роли электрических сигналов, в частности вариабельного потенциала (ВП), является одним из ключевых направлений современной физиологии растений, так как выявляет один из механизмов формирования быстрого и целостного ответа растительного организма, на действие стрессоров. В настоящее время показано, что электрические сигналы вызывают изменения в протекании широкого спектра физиологических процессов, включая обратимую инактивацию фотосинтеза и активацию дыхания, при этом конечным результатом ответов является, по-видимому, повышение устойчивости растения к стрессовым воздействиям. В соответствии с предложенной в ряде работ гипотезой можно ожидать, что повышение содержание АТФ является прямым следствием развития фотосинтетического ответа. С другой стороны, именно повышение концентрации АТФ в растительном организме может быть одним из механизмов возрастания его устойчивости к действию стрессоров. Таким образом, вопрос об увеличении содержания АТФ под действием ВП является одним из ключевых для понимания функциональной роли электрических сигналов.

Исследования проводили на двухнедельных проростках гороха *Pisum sativum* L. Регистрацию электрических сигналов осуществляли с использованием хлорсеребренных макроэлектродов и высокоомного милливольтметра ИПЛ-113 с выходом на ПК. Через определенное время после распространения электрического сигнала, лист использовали для определения АТФ. Методика включала в себя гомогенизацию листа в 5% растворе ледяной трихлоруксусной кислоты, ее нейтрализацию, разведение пробы и определение АТФ люциферин-люциферазным методом, с использованием стандартного АТФ-чувствительного набора (sensitive bioluminescence based ATP determination kit, Biaffin GmbH & Co KG, Германия). Хемилюминцсенция при этом определялась с использованием многофункционального фотометра-хемилюминометра для микропланшет Synergy 2 (BioTek instruments, США).

Локальный ожог вызывал распространение по растению ВП. При этом его амплитуда может существенно снижаться по мере удаления от зоны ожога: в листовой пластинке второго листа наблюдается выраженный электрический сигнал, в то время как в четвертом листе - лишь незначительная реакция.

Анализ содержания АТФ в листьях в условиях покоя (77 ± 7 нмоль $г^{-1}$) хорошо согласуется с данными литературы о содержании в пределах от нескольких десятков до ста и более нмоль $г^{-1}$ сырого веса. При нанесении локального ожога на первый зрелый листа проростков гороха, динамику изменения содержания макроэргических соединений исследовали во втором и четвертом листьях в условиях освещения. Во втором листе через 5 минут после ожога наблюдалось возрастание содержания АТФ по сравнению с контролем, достигающее максимума через 10 минут после ожога, достоверно превышающее контрольный уровень. На 20-й минуте после ожога содержание АТФ значительно спадало, однако недостоверно превышало контрольный уровень. К 40-й минуте развивался второй максимум содержания АТФ. Анализ влияния локального ожога на содержание АТФ в четвертом зрелом листе проростка гороха показал иную картину. После ожога наблюдалась лишь недостоверная тенденция к снижению содержания АТФ по отношению к контролю, которая была максимальна на 20-й минуте, после чего наблюдалось медленное возвращение содержания АТФ к начальному уровню. Такой результат очень хорошо согласуется с электрофизиологическими измерениями. Можно заключить, что именно ВП является основным механизмом, сопрягающим локальный ожог листа и повышение содержания АТФ в неповрежденных частях растения.

Для выявления возможной роли фотосинтеза в индуцированном локальным ожогом возрастании содержания АТФ во втором листе, был исследован ответ в условиях затемнения. Было показано, что затемнение в течении одного часа слабо и недостоверно снижало содержание АТФ в интактном листе. В то же время, локальный ожог вызывал увеличение содержания АТФ, которое имело один максимум через 5 минут после нанесения повреждения, а затем плавно возвращалось к начальному уровню. В то же время величина такого возрастания была почти в три раза ниже, нежели первый максимум АТФ во втором листе в условиях освещениях. Такой результат показывает, что фотосинтез, по-видимому, играет существенную роль в формировании ответа, однако дыхание также участвует в его развитии.

Таким образом, было показано, что локальный ожог может вызывать повышение содержания АТФ в неповрежденных листьях, имеющее сложную кинетику. При этом генерация и распространение вариабельного потенциала является, по-видимому, основным механизмом передачи сигнала от раздраженного к исследуемому листу. Наконец, предварительно показано, что изменение содержания АТФ, вызванное локальным ожогом, связано, по-видимому, с ответами фотосинтеза и дыхания, что, однако, требует дальнейшего исследования.

Работа поддержана грантом РФФИ 14-04-01899 А

РАСТЕНИЯ КАК ИНДИКАТОР ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМ В УСЛОВИЯХ ДОЛГОВРЕМЕННОГО АТМОСФЕРНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ

Plants as an indicator of the ecological state of forest ecosystems under long-term atmospheric pollution

Сухарева Т.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем промышленной экологии Севера Кольского научного центра Российской академии наук, Апатиты, Россия; sukhareva@inep.ksc.ru

Воздействие на лесные экосистемы газовоздушных выбросов промышленных предприятий вызывает ряд сходных изменений в элементном составе различных видов растений. Наблюдается многократное возрастание поллютантов в ассимилирующих органах и обеднение многими важнейшими для функционирования элементами.

При техногенном воздействии поглощение элементов питания растениями во многом определяется минеральным составом почвы, процессами выщелачивания химических элементов из растительных тканей кислыми осадками, фолиарным поглощением загрязняющих веществ, антагонистическими отношениями между элементами и дисбалансом поглощения элементов из почвы.

Целью исследования явилось изучение пространственно-временной динамики химического состава ассимилирующих органов доминирующих деревьев и растений напочвенного покрова в процессе техногенной дигрессии северотаежных лесов в зоне воздействия горно-металлургических предприятий Мурманской области.

Исследования проводили на стационарных пробных площадях, представляющих основные стадии дигрессионной сукцессии северотаежных лесов, в зоне воздействия медно-никелевых комбинатов «Североникель» и «Печенганикель». Фоновые объекты представлены ельниками кустарничково-зеленомошными и сосняками кустарничково-лишайниковыми. Леса, подверженные воздушному загрязнению, представлены дефолиирующими лесами и техногенными редколесьями. Обследованы постоянные пробные площади, по градиенту промышленного загрязнения от комбината «Североникель», в еловых (7, 28, 31, 100, 260 км от комбината) и в сосновых лесах (8, 31, 48 и 270 км). В зоне воздействия комбината «Печенганикель» постоянные пробные площади расположены на различном удалении от комбината (5, 7, 12, 17, 33, 44 км). Основным типом лесной растительности в данном районе являются березняки травянисто-кустарничковые и кустарничковые, а также сосняки травянисто-кустарничковые и кустарничковые.

Долговременные наблюдения в зоне влияния горно-металлургических предприятий показали, что в настоящее время содержание поллютантов в фотосинтезирующем аппарате растений остаются высокими. Сравнительная оценка минерального состава хвои, выполненная на основе данных многолетнего мониторинга (1991–2012 гг.), выявила снижение концентраций Ni, Cu, Fe и S в ассимилирующих органах хвойных деревьев в зоне влияния комбината «Североникель». Наиболее очевидные изменения химического состава наблюдаются в сосновых и еловых редколесьях, где отмечаются наиболее высокие уровни техногенной нагрузки на растительные сообщества. Содержания тяжелых металлов в ассимилирующих органах растений в районе комбината «Печенганикель» остаются высокими. Сохраняется недостаточная обеспеченность элементами питания (Ca, K, P, Mg, Mn), некоторые элементы становятся дефицитными (Mg, K, P, Mn). Одновременно ассимилирующие органы продолжают обедняться важнейшими элементами питания (Ca, Mg, Mn, Zn), что оказывает негативное воздействие на функционирование растений.

Кустарнички являются доминирующими растениями бореальных лесов и наиболее устойчивыми компонентами растительных сообществ в условиях техногенного загрязнения. Следствием влияния воздушного загрязнения на дикорастущие ягодники является изменение элементного состава их вегетативных и генеративных органов. Накапливающиеся в листьях и плодах тяжелые металлы делают их непригодными для использования в качестве пищевого и лекарственного сырья

Сокращение объема выбросов загрязняющих веществ комбинатами «Североникель» и «Печенганикель» в ряде случаев вызвало снижение концентрации серы и тяжелых металлов в листьях (хвое), но не привело к оптимизации питательного статуса растений. Накопленные десятилетиями в наземных экосистемах загрязнители, процессы обеднения почв элементами питания, фиксация тяжелых металлов в комплексах с органическим веществом почв и продолжающее токсическое влияние эмиссий, хотя и поступающих в атмосферу в меньшем объеме, препятствуют восстановительным процессам в сильно поврежденных и разрушенных экосистемах, особенно вблизи локальных источников

Наличие сети мониторинговых станций в зоне влияния медно-никелевых комбинатов позволяет проводить длительные наблюдения на значительной территории индустриально развитого региона, выявлять долговременные тренды трансформации качества природных сред, отклики биологических систем на различные виды антропогенного воздействия. Информативными биоиндикаторами атмосферного загрязнения лесных экосистем являются ассимилирующие органы растений, которые чутко реагируют на изменение условий произрастания.

ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ СИГНАЛЫ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ И ИХ СВЯЗЬ С ФОТОСИНТЕЗОМ

Electrical signals in higher plants and their connection with photosynthesis

Сухов В.С.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород, Россия
vssuh@mail.ru

Локальные раздражения вызывают у растений распространяющиеся электрические сигналы (ЭС), представленные потенциалом действия (ПД) и вариабельным потенциалом (ВП). ПД представляет собой активно распространяющийся сигнал, который возникает при действии неповреждающих факторов и связан в первую очередь с активацией ионных каналов. ВП является, по-видимому, местным электрическим ответом на распространение гидравлического и (или) химического фактора, возникающим при повреждении растения и связанным в первую очередь с инактивацией H^+-АТФазы плазматической мембраны. ЭС оказывают существенное влияние на функциональное состояние растений и, в частности, индуцируют фотосинтетические ответы.

Влияние ЭС на фотосинтез имеет достаточно сложный характер. По-видимому, вызванные ЭС фотосинтетические ответы можно разделить на кратковременные, которые развиваются в течение 2-15 минут, и длительные, достигающие максимальных значение в течение 20-30 мин.

Кратковременные ответы в большинстве случаев представляют собой обратимую инактивацию фотосинтеза, хотя в отдельных работах показана возможность активации фотосинтетических процессов под действием ЭС. Согласно современным представлениям, наиболее вероятным механизмом индукции быстрой инактивации фотосинтеза являются связанные с развитием ЭС изменения ионных концентраций. Существуют две основных гипотезы о природе такой индукции. Первая из них опирается на исследования влияния ПД на фотосинтетические процессы у харовых водорослей и предполагает, что развитие быстрой инактивации связано с входом кальция в клетку и снижением активности темновой стадии фотосинтеза. Возможность участия такого механизма в развитии фотосинтетического ответа высших растений остается дискуссионной. Вторая гипотеза опирается на исследования механизмов влияния ВП на фотосинтез высших растений и предполагает, что основным индуктором ответа является протонной сигнал. В ее пользу свидетельствует изменение внутри- и внеклеточного pH при генерации ВП, зависимость фотосинтетического ответа от активности H^+-АТФазы плазматической мембраны, развитие быстрой инактивации фотосинтеза при действии протонофоров и др. При этом протонный сигнал может потенциально влиять на транспорт CO_2 в клетку, активность ферментов цикла Кальвина, диссипацию энергии в антенном комплексе фотосистемы II и локализацию ферредоксин-НАДФ-редуктазы, однако значимость каждого из этих механизмов для формирования фотосинтетического ответа требует дальнейшего анализа.

Длительные фотосинтетические ответы также представляют собой индуцированную ЭС инактивацию фотосинтеза, которая может продолжаться в течение 5 и более часов. Наиболее вероятным механизмом такой инактивации является синтез жасмоновой и абсцизовой кислот. В частности, показано, что ЭС вызывают накопление этих стрессовых гормонов в растении, причем инактивация фотосинтеза развивается синхронно с повышением их концентрации. Однако нельзя исключать существование других механизмов длительной инактивации. Как показано в ряде работ, ЭС снижают транспорт углеводов по флоэме, что может быть связано с уменьшением активности протон-сахарозного симпортера плазматической мембраны в условиях деполяризации. Потенциально, такое уменьшение транспорта углеводов может приводить к возрастанию сахаров в клетках мезофилла листа и способствовать тем самым подавлению фотосинтеза в нем.

Отдельного рассмотрения заслуживает вопрос о значении вызванных ЭС фотосинтетических ответов для жизни растения. По-видимому, основным результатом их развития является повышение устойчивости фотосинтетического аппарата к действию неблагоприятных факторов. В частности показано, что ПД может повышать устойчивость фотосистемы II к нагреву и охлаждению, а ВП способен увеличивать устойчивость фотосистемы I к высокой температуре. В последнем случае было установлено, что развитие фотосинтетического ответа является необходимым условием для формирования повышенной устойчивости фотосистемы I к прогреву. Конкретными механизмами вызванного ЭС повышения устойчивости могут служить рост нефотохимического тушения, активация циклического потока электронов в хлоропластах, изменение продукции активных форм кислорода и синтез АТФ. Можно предположить, что увеличение устойчивости фотосинтетического аппарата является важным компонентов общего возрастания устойчивости растения, которое наблюдается после распространения ЭС.

В целом, полученные результаты показывают, что генерация и распространение ЭС является важным механизмом регуляции фотосинтеза, который, по-видимому, обеспечивает повышение устойчивости фотосинтетического аппарата к действию неблагоприятных факторов.

Работа поддержана грантом Российского научного фонда (проект № 14-26-00098).

УГЛЕВОДНЫЙ ОБМЕН ЛИСТЬЕВ *CUCUMIS SATIVUS* L. СОРТА ЦЕРЕС В УСЛОВИЯХ СВЕТОКУЛЬТУРЫ

Табаленкова Г.Н., **Захожий И.Г.**, **Головко Т.К.**

Photosynthetic carbohydrate metabolism in leaves of Cucumber (*Cucumis sativus* L.) grown under artificial light

Учреждение Российской академии наук Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия
tabalenkova@ib.komisc.ru

Развитие современного агропромышленного производства на базе защищенного грунта во многом зависит от успешного решения вопросов оптимизации светокультуры в соответствии с биологическими потребностями выращиваемых растений. Решение этих вопросов приобретает особое значение для северных территорий, располагающихся в первой световой зоне, где приход суммарной фотосинтетически активной радиации в зимний период крайне низок, и производство овощной продукции без дополнительного освещения невозможно. Одной из основных овощных культур, выращиваемых в зимних теплицах, является огурец - культура требовательная к условиям освещенности.

Одним из способов улучшения светового режима листьев среднего и нижнего ярусов, где происходит завязывание, формирование и налив плодов, является досвечивание внутри ценоза. Этот подход связан с повышенной затратой энергетических ресурсов,требует знаний о закономерностях продукционного процесса светокультуры. Целью работы было исследование динамики углеводов листьев огурца в зависимости от их положения на растении и освещенности.

Растения выращивали в производственных теплицах ООО «Пригородный» на минеральном субстрате. В опытах использовали гибрид F1 Церес. Температуру, влажность, концентрацию CO_2 в теплице контролировали компьютерной системой климат-контроля («Sercom», Нидерланды). Лампы ДнаЗ-600 Вт в количестве 19 шт. подвешивали над каждым рядом длиной 50 м на расстоянии 2.5 м друг от друга. Лампы меньшей мощности (ДнаЗ-250 Вт) размещали в междурядьях, не используемых для ухода за растениями и вывоза продукции. Лампы над ценозом включали в промежуток времени от 22 до 24 ч, а выключали с 14 до 17 ч. Свет от верхних ламп поступал в течение 19 ч, от ламп внутри ценоза – 16 ч . Темный период продолжался с 17 до 22 ч. Содержание и состав пула низкомолекулярных сахаров определяли методом ВЭЖХ (Хроматография..., 1986) с модификациями, крахмал – согласно (Починок, 1976).

По физиологическому значению углеводы представляют собой активные метаболиты, запасные и структурные вещества. Анализ углеводного статуса листьев огурца показал, что фонд неструктурных углеводов в листьях верхнего яруса был представлен преимущественно крахмалом (до 250 мг/г сухой массы). Очень высокий уровень содержания крахмала в листьях верхнего яруса поддерживался практически в течение всего суточного цикла. Листья среднего и нижнего ярусов, освещаемые боковыми лампами, содержали в 3 раза больше крахмала, чем листья с затененной стороны. Максимум накопления крахмала у них отмечали ближе к концу периода досвечивания (14 ч). Это свидетельствует о том, что скорость оттока ассимилятов из этих листьев меньше скорости их образования. Более выраженная динамика фонда неструктурных углеводов в листьях среднего и нижнего ярусов обусловлена тем, что они являются донорами субстрата, необходимого для формирования плодов.

Содержание растворимых углеводов в листьях определяется не только скоростью их синтеза, но и скоростью оттока. Максимум накопления растворимых углеводов в листьях среднего и нижнего ярусов отмечали ближе к концу светового периода. После темноты, которая длилась с 17 до 21 ч, их количество сильно уменьшалась (в 2-2,5 раза), что говорит об интенсивном оттоке в формирующиеся плоды. Следует отметить сходство динамики содержания сахаров в листьях, расположенных на стороне с межрядными лампами и на противоположной стороне, где лампы внутри ряда отсутствовали.

Изменения соотношения моно- и дисахаров зависели от фотопериода и положения листьев. В светлый период это соотношения в листья верхнего яруса изменялось незначительно (1,4-1,6) и резко уменьшалось темный период суток (до 0,3), за счет снижения содержания моносахаров. В листьях среднего и нижнего яруса минимальная величина соотношения моно- и дисахаров приходилась на конец светового периода (0,4-1) для освещенных боковыми лампами листьев и 1-1,6 для листьев без боковой досветки и значительно возрастала после темноты в основном за счет уменьшения содержания дисахаров, используемых для налива плодов. Известно, что повышение освещенности может приводить к накоплению в листе продуктов фотосинтеза, что по принципу обратной связи оказывает тормозящее действие на фотосинтез. В наших опытах (Далькэ и др., 2014) показано снижение интенсивности фотосинтеза в период максимального накопления в листьях крахмала.

Таким образом, оценены эффекты различных уровней поступления ФАР на углеводный статус листьев огурца. С точки зрения оптимизации светового режима наибольший интерес представляет факт депонирования крахмала в листьях среднего яруса, получавших дополнительный свет за счет установки боковых ламп, что может приводить к снижению фотосинтетической активности растений.

АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ГАЛОФИТОВ С РАЗНОЙ СТРАТЕГИЕЙ АДАПТАЦИИ К ЗАСОЛЕНИЮ

Табаленкова Г.Н.[1], Захожий И.Г.[1], Розенцвет О.А.[2], Нестеров В.Н.[2], Богданова Е.С.[2]

Amino acids composition of halophytes with different strategy of a salt tolerance

[1] *Учреждение Российской академии наук Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия* tabalenkova@ib.komisc.ru

[2] *Учреждение Российской академии наук Институт экологии Волжского бассейна РАН, Тольятти, Россия* olgarozen@pochta.ru,

Галофиты - растения, обитающие на засоленных почвах. Им приходится приспосабливаться не только к высокой концентрации солей, но и к сильному освещению, а обитателям аридных областей еще и к высоким температурам и засухе. Способность галофитов к адаптации к условиям засоленной среды связана с их специфическими экологическими и физиолого-биохимическими особенностями. Эти адаптации определяют возможность произрастания и географию распространения галофитов на аридных территориях. Приспособление растений к условиям засоления осуществляется через соленакопление, солевыделение и соленепроницаемость. По этим признакам галофиты делятся на три эколого-физиологические группы: соленакапливающие - эугалофиты, солевыделяющие - криногалофиты и соленепроницаемые - гликогалофиты

Изучали аминокислотный состав галофитов с разной стратегией адаптации к засолению. Исследование проводили в районе Приэльтонья. Климатические условия территории характеризуются резким недостатком влаги, сильной засушливостью, особенно в весеннее-летний период. Близость залегания грунтовых вод, засоленность почвогрунтов обусловили формирование солончаковости и солонцеватости почв. В качестве объектов исследования использовались листья дикорастущих галофитов, представляющих три стратегии галотолерантности: эугалофитов *Salicornia perennans* Willd., *Suaeda physophora* Pall. *Anabasis aphylla* L. криногалофитов *Limonium gmelinii* (Willd.) Kuntze, *Limonium* caspium (Willd.) Gams, *Halocnemum strobilaceum* (Pall.) M. Bieb. и гликогалофитов *Artemisia santonica* L., *Artemisia lerchiana* Weber in Stechm., *Artemisia pauciflora* Weber in Stechm., *Atriplex cana* C.A. Mey. Суммарное содержание и состав аминокислот (АК) определяли после гидролиза навески в 6н HCl при 105°C в течение 24 ч на анализаторе Т-339 (Чехия). Свободные АК извлекали 40% этанолом и определяли на анализаторе ААА-400 (Чехия) в системе литиевых буферов.

Анализ аминокислотного состава листьев галофитов показал, что их содержание варьировало в пределах 66-139 мг/г сухой массы, при этом азот АК составляет 40-67% от общего азота. В листьях галофитов выявлено 17 аминокислот, из которых цистин и метионин находятся в следовых количествах. Наибольшая доля приходится на моно- дикарбоновые АК составляющие свыше 50% суммы всех АК. Несмотря на существенные различия между видами в сумме аминокислот, их соотношение в листьях не зависело от стратегии адаптации галофитов к засолению.

Универсальной адаптивной реакцией растительного организма к недостатку воды является накопление осмопротекторов, защищающих макромолекулы в клетках. В качестве осмолитиков могут выступать азотистые соединения, в частности, свободные аминокислоты. Суммарное содержание свободных АК изменялось в зависимости от вида растений: у эугалофитов пределах от 0,6 у *Anabasis aphylla* до 1,5 мг/г сухой массы у *Salicornia perennans.* У полыней, относящихся к гликогалофитам, содержание свободных АК было значительно выше и составляло 5-8 мг/г сухой массы. Обнаружено 4 непротеиногенных кислоты: цистатионин, β-аланин, орнитин, -аминомасляная кислота. Участие непротеиногенных кислот в общем пуле свободных АК составляет у гликогалофитам 2-6%, у эугалофитов – 12-26%. Среди свободных АК выделяют группу так называемых «стрессовых» АК, к которым относятся аланин, фенилаланин, -аминомасляная кислота и пролин (Полевой 1989). Доля «стрессовых» аминокислот у галофитов составляла 60-90%. Причем, в их составе у гликогалофитов доминирует пролин, а у эугалофитов значительную часть (около 30%) составляет аланин. Интересные данные получены для *Limonium gmelinii* и *L. caspium*. В природе оба вида можно наблюдать в одинаковых экологических условиях. Однако у *L. caspium* доля пролина составляет 93% от суммы свободных аминокислот, в то время как у *L. gmelinii* значительная часть «стрессовых» АК (свыше 50%) представлена аланином и -аминомасляной кислотой. Наблюдается отрицательная корреляция (r= -0.54) между содержанием в листьях галофитов свободного пролина и аланина. Как известно (Кузнецов, Шевякова, 1999) синтез пролина может идти по орнитиновому пути, что согласуется с высокой положительной корреляцией (r=0.62) между уровнем свободным пролина и аргинина в листьях галофитов.

Таким образом, исследованные дикорастущие виды галофитов, произрастающие в условиях Приэльтонья, различаются не только по своему систематическому положению, стратегии соленакопления, но и по содержанию аминокислот, в том числе и свободных. Характерной особенностью галофитов является высокий уровень «стрессовых» АК, для гликогалофитов и криногалофитов это высокое содержание пролина, для эугалофитов - аланина и -аминомасляной кислоты.

ДИНАМИКА НАКОПЛЕНИЯ НЕПРОТЕИНОВЫХ ТИОЛОВ В ЛИСТЬЯХ ПШЕНИЦЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ НИЗКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ И КАДМИЯ

The dynamics of non-protein thiols accumulation in wheat leaves under non-freezing low temperature and cadmium influence

Таланова В.В., Репкина Н.С., Титов А.Ф.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия; talanova@krc.karelia.ru

Одной из неспецифических реакций растений в ответ на действие стресс-факторов разной природы является активизация антиоксидантной системы, в том числе накопление низкомолекулярных антиоксидантов, к которым относится глутатион. Он участвует в работе ферментных антиоксидантов, восстановлении других низкомолекулярных антиоксидантов и способен непосредственно ингибировать активные формы кислорода. Наряду с его производными – фитохелатинами, глутатион также активно участвует в детоксикации тяжелых металлов. В последнее время получены данные о повышении содержания фитохелатинов при действии на растения высокой температуры и засоления. Исходя из этого, мы предположили, что фитохелатины, наряду с глутатионом, могут участвовать в повышении устойчивости растений не только к тяжелым металлам, но и к холоду. Задачей данной работы явилось изучение содержания непротеиновых тиолов (глутатиона и фитохелатинов) в листьях пшеницы при действии низкой температуры и кадмия.

Исследования проводили на проростках пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Московская 39, которые в течение недели подвергали раздельному или совместному действию температуры 4°С и кадмия (100 мкМ). О реакции растений на действие указанных факторов судили по изменению ростовых показателей и проницаемости мембран клеток листа. Содержание непротеиновых тиолов – глутатиона и фитохелатинов – определяли методом ВЭЖХ. Для анализа содержания в листьях пшеницы транскриптов генов, кодирующих ферменты синтеза непротеиновых тиолов, использовали метод ПЦР в режиме реального времени.

Опыты показали, что как раздельное, так и совместное действие низкой температуры тормозит рост проростков, хотя полной его остановки при этом не происходит. В отличие от этого, анализ выхода электролитов из клеток листа пшеницы при раздельном и совместном действии низкой температуры и кадмия не выявил существенных изменений данного показателя на протяжении всего эксперимента (7 сут). Это говорит о том, что действие указанных стресс-факторов не вызывает нарушения проницаемости мембран клеток листьев, а следовательно, их повреждения.

Исследование уровня непротеиновых тиолов в листьях пшеницы показало, что содержание глутатиона и фитохелатинов под влиянием кадмия, низкой температуры и их совместного действия возрастает в начальный период. При действии кадмия наблюдается более быстрое и большее по величине накопление фитохелатинов в листьях, чем при действии только низкой температуры и ее совместном действии с кадмием. Однако, примерно через 1 сут во всех вариантах опыта происходило снижение содержания глутатиона, тогда как накопление фитохелатинов продолжало увеличиваться. Последнее может быть связано с частичным расходованием глутатиона на синтез фитохелатинов.

Изучение накопления транскриптов генов *GS1* и *PCS1*, кодирующих ключевые ферменты синтеза глутатиона и фитохелатинов, показало, что раздельное и совместное действие низкой температуры и кадмия приводит к увеличению содержания транскриптов гена *GS1* в листьях пшеницы уже в начальный период действия (15–30 мин), причем повышенный уровень мРНК *GS1* сохраняется на протяжении всего эксперимента. Возрастание уровня транскриптов гена *PCS1* зафиксировано нами как при раздельном, так и при совместном действии низкой температуры и кадмия. Причем большее накопление мРНК гена *PCS1* обнаружено при действии кадмия, чем при действии температуры 4°С. Эти данные хорошо корреспондируются с результатами изучения содержания в листьях непротеиновых тиолов.

На основании полученных данных можно заключить, что накопление непротеиновых тиолов – глутатиона и фитохелатинов – является частью адаптивного ответа растений на действие низкой температуры и кадмия, что указывает на неспецифический характер данной реакции.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 14-04-31676 мол_а).

БИОЭКОНОМИКА: ВЫЗОВЫ ФИЗИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ

Bioeconomy: challenges to plant physiology

Тараканов И.Г.

ФГОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева», Москва, Россия; ivatar@yandex.ru

Биоэкономика обеспечивает устойчивое производство возобновляемых сырьевых ресурсов на суше и в океане и их конверсию в продукты питания, другие продукты на основе биоматериалов, разные виды биотоплива и биоэнергию. Биоэкономика базируется на новых концепциях использования естественных биоресурсов и подразумевает значительно более эффективное, чем прежде, их использование благодаря широкому внедрению инновационных методов и технологий, а также существенное расширение сферы их применения на основе передовых разработок и открытий. Растения являются основным источников ресурсов в ведущих отраслях формирующейся биоэкономики. Поэтому неудивительно, что науки о растениях, и в их числе физиология растений, будут играть все более важную роль в расширении ее сырьевой базы и становлении инновационных технологий. Ключевым здесь выступает эффективное многоуровневое взаимодействие между представителями разных дисциплин на основе холистического подхода к решению критических задач.

Важнейшими направлениями для концентрации усилий научного сообщества являются следующие. Существенное повышение продуктивности биомассы за счет увеличения скорости роста, увеличения продолжительности вегетации и совершенствования архитектоники культур. Этому также будет способствовать снижение потерь биомассы за счет повышения устойчивости растений к вредителям и болезням, а также абиотическому стрессу. Особые требования предъявляются к качеству биомассы с точки зрения ее переработки для получения биоэнергии и биоматериалов (изменение структуры и химического состава клеточной стенки, оптимизация других элементов органоминерального состава биомассы для облегчения ее дальнейшей переработки, в том числе путем ферментации). Другое направление – повышение эффективности использования растениями жизненных ресурсов (оптимизация фотосинтетической деятельности и минерального питания, повышенная эффективность водопотребления). Важные задачи предстоит решить в области использования биоэнергетических растений, как классических, так и новых.

Обеспечение глобальной продовольственной безопасности подразумевает увеличение производства сельскохозяйственной продукции за счет повышения урожайности культур, а также питательной ценности выращиваемого сырья. Одним из важнейших направлений остается интенсивная селекционная работа с важнейшими продовольственными культурами, повышение их урожайности и пластичности (достижение стабильной продуктивности в меняющейся среде) и особенно повышение устойчивости новых сортов засухе, засолению, вредителям и болезням. Современные селекционные технологии показали эффективность в выведении сортов с повышенной продуктивностью, другими измененными важными признаками (карликовость, ограниченное ветвление, повышенная семенная продуктивность и т.д.). Создание автоматизированных платформ для скрининга больших популяций позволяет, в том числе, выйти на высокопроизводительное генотипирование и фенотипирование и по комплексным признакам. Изменение ритмики развития растений ведущих продовольственных культур, создание многолетних форм риса, пшеницы, кукурузы. Исследования по устойчивой адаптации к изменениям климата, в том числе в связи с возможным изменением ареалов стратегических культиваров. Выведение агрохимически эффективных сортов. Микоризные сообщества – повышение эффективности минерального питания (фосфор), толерантность к биотическому и абиотическому стрессу. В рамках концепции функционального питания - создание растений диетического и оздоравливающего действия на человеческий организм. Важный акцент делается на биофортификацию (биообогащение микроэлементами, витаминами) ведущих культур, как традиционных, так и новых. Здоровое питание должно базироваться на здоровых сельскохозяйственных продуктах (исследование состава растений и особенно хозяйственно-полезной части урожая, вторичных соединений и витаминов). Поддержание разнообразия и ре-интродукция старых продовольственных и технических культур (создание высокоинтенсивных современных сортов часто сопровождалось утратой или недооценкой генов, контролирующих многие ценные признаки у сортов стародавней селекции или диких форм).

СОДЕРЖАНИЕ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА И АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ В ТАЛЛОМАХ РЯДА БУРЫХ ВОДОРОСЛЕЙ

Hydrogen peroxide and ascorbate content in the thalli of several brown algae

Тараховская Е.Р., Билова Т.Е., Пузанский Р.К.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия
elena.tarakhovskaya@gmail.com

Метаболизм растительной клетки сопровождается постоянным формированием активных форм кислорода (АФК), которые являются одним из ключевых компонентов системы адаптивного ответа растений на действие стрессовых факторов. В настоящее время показано, что наиболее стабильная форма АФК – пероксид водорода, не только вовлечен в контроль адаптационных реакций, но выполняет также сигнальные и регуляторные функции в таких процессах, как деление клеток и рост растяжением. Для обеспечения сигнальной функции концентрация H_2O_2 в клетке должна строго контролироваться. В тканях нестрессированных высших растений содержание пероксида существенно изменяется в зависимости от возраста растения, стадии онтогенеза и особенностей экологии вида. Однако, у макрофитных водорослей, для которых также показано участие H_2O_2 в адаптивных реакциях, содержание и распределение этой АФК в талломах в физиологически нормальных условиях практически не изучено.

Целью данного исследования было определение содержания пероксида водорода в разных зонах таллома шести видов литоральных и сублиторальных бурых водорослей. Параллельно было проведено исследование распределения по таллому аскорбиновой кислоты – ключевого антиоксиданта клеток бурых водорослей. Объектами послужили 4 вида р. *Fucus* (*F. vesiculosus* L., *F. serratus* L., *F. edentatus* De la Pyl. и *F. distichus* L.), *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jolis и *Pelvetia canaliculata* (L.) Dcne et Thur. Талломы водорослей, находящиеся в стадии размножения, со зрелыми рецептакулами, собирали в наиболее типичных по положению на литорали местообитаниях. Чтобы свести к минимуму изменения содержания АФК, связанные с приливно-отливным циклом, во всех случаях водоросли собирали из-под воды в начале отлива. Содержание пероксида водорода и аскорбиновой кислоты определяли в трех зонах вегетативной части таллома (основание, средняя часть и верхушка) и в рецептакулах. Полученные результаты показывают, что содержание пероксида водорода в тканях водорослей соответствует среднему содержанию этой формы АФК в тканях высших растений и составляет 0,05-0,75 мкмоль/г сыр. массы. Показаны достоверные различия в содержании H_2O_2 в зависимости от таких факторов как: вид объекта, положение водоросли на литорали/сублиторали и зона таллома. Максимальное количество H_2O_2 обнаружено в талломах сублиторальных и верхнелиторальных растений, минимальное – в талломах типичных обитателей средней литорали. Для всех объектов характерно наличие продольного градиента содержания H_2O_2 в тканях, с максимумом в основании таллома. Это может быть связано с разной интенсивностью ростовых процессов в базальных и апикальных частях таллома. Одной из функций H_2O_2 является образование поперечных сшивок между компонентами клеточной стенки, приводящее к ужесточению стенок и снижению интенсивности роста клеток растяжением. Таким образом, относительно низкое содержание пероксида водорода в апикальных участках таллома отражает высокую интенсивность ростовых процессов в этой зоне. Другой причиной невысокого содержания H_2O_2 в вегетативных и генеративных (рецептакулы) верхушечных зонах талломов может быть преимущественно акцепторная функция этих зон. Апикальные зоны и особенно генеративные органы растений, как правило, характеризуются низким содержанием фотосинтетических пигментов и относительно низкой фотосинтетической активностью. Это подтверждается полученными нами ранее данными по содержанию фотосинтетических пигментов в тканях фукусовых водорослей и интенсивности фотосинтеза.

Основными компонентами антиоксидантной системы макрофитных водорослей считаются аскорбиновая кислота, каротиноиды и токоферол. У бурых водорослей сходные функции, по-видимому, выполняют также и фенольные соединения. Полученные нами результаты показывают резкий максимум содержания аскорбиновой кислоты в клетках вегетативных апексов талломов всех исследованных водорослей. В целом содержание аскорбата в тканях водорослей находилось в пределах 0,1-2,2 мкмоль/г сыр. массы, что соответствует литературным данным, полученным на таксономически близких объектах. Поскольку наши исследования распределения пероксидазной активности в тканях водорослей показывают минимальный уровень активности H_2O_2-потребляющих ферментов в апикальных зона таллома, ведущая роль в контроле содержания пероксида водорода в этой зоне, по-видимому, принадлежит системе антиоксидантов.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 14-04-32320).

РАСТЕНИЯ В УСЛОВИЯХ АНТРОПОГЕННЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ: ИНФОРМАЦИОННЫЕ РЕСУРСЫ БИБЛИОТЕКИ РАН

Plants under the anthropogenic burden: information resources of the Russian Academy of Sciences library

Тараховская Е.Р.[1,2], Панова А.В.[1]

[1] *Библиотека Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия; elena.tarakhovskaya@gmail.com*
[2] *Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*

Информационное обеспечение является ключевым компонентом научных исследований. В связи с быстрым ростом количества печатных и электронных периодических изданий поиск, обобщение и анализ информации в области поставленной задачи нередко становится серьезной проблемой. Это напрямую касается исследований в области экологической безопасности, поскольку они совмещают в себе объекты, задачи и методики нескольких смежных отраслей науки. В настоящее время экологические исследования проводятся на стыке биологии, почвоведения, медицины, химии, физики, геологии и географии. Также, эти исследования связаны с социально-экономическими аспектами и вопросами технического прогресса. Многоплановостью данной проблемы объясняется появление в течение последних десятилетий большого количества баз данных (БД), посвященных различным аспектам экологической безопасности. Основным информационным ресурсом Библиотеки РАН, имеющим экологическую направленность, является БД «Вредные вещества в окружающей среде» (http://www.rasl.ru/e_resours/index.php#3). Объем базы в настоящее время составляет около 16 тыс. записей, и она постоянно пополняется. База содержит большое количество работ обзорного характера, а также работ, содержащих значительную степень новизны. Особенностью базы является ее специализация на отборе и анализе публикаций, описывающих экологическую ситуацию в Северо-Западном регионе РФ (преимущественно Ленинградская, Мурманская, Архангельская область, Республики Карелия и Коми) и близлежащих государствах. Влиянию антропогенных факторов на экологию и физиологию растительных организмов и поискам путей решения существующих в этой области проблем посвящена значительная часть БД (около 40% записей). Хорошо отражены такие вопросы как источники техногенного загрязнения окружающей среды, содержание, миграция и трансформация поллютантов разной химической природы в системе атмосфера-вода-почва-растение, механизмы адаптивных ответов растительных организмов на воздействие тяжелых металлов, поверхностно-активных соединений, различных классов гербицидов. Анализ информационного материала позволяет составить список отечественных и зарубежных периодических изданий и БД, предоставляющих наиболее полную и разностороннюю информацию о функционировании растительных организмов в условиях антропогенных воздействий, как в экологическом, так и в физиологическом аспекте. Список содержит множество известных изданий, таких как: “Chemosphere”, “Environmental Monitoring and Assessment”, “Science of the Total Environment”, “Boreal Environment research”, “Polar research”, “Journal of Environmental Protection and Ecology”, «Растительные ресурсы», «Физиология растений», «Биология внутренних вод», «Проблемы окружающей среды и природных ресурсов», «Проблемы региональной экологии», «Теоретическая и прикладная экология», «Проблемы современного естествознания». Также в БД содержится большое количество малодоступных материалов, таких как сборники тезисов тематических конференций и симпозиумов, отчеты, программы и описания других актуальных БД экологической направленности.

ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННОЙ САХАРОЗЫ НА КАМБИАЛЬНЫЙ РОСТ ОСИНЫ, ОЛЬХИ И БЕРЕЗЫ

Influence of exogenous sucrose on cambial growth of aspen, alder and birch

Тарелкина Т.В., Новицкая Л.Л., Галибина Н.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт леса Карельского научного центра РАН, Петрозаводск, Россия; karelina.t.v@gmail.com

У древесных растений формирование тканевых комплексов ксилемы и флоэмы является результатом деятельности камбия, напрямую зависящей от поступления в камбиальную зону фотоассимилятов. Основной транспортной формой ассимилятов у древесных растений является сахароза. Показано, что у березы повислой превышение некоторого порогового уровня сахаров во флоэме может приводить к торможению камбиального роста и развитию структурных аномалий проводящих тканей (Novitskaya, Kushnir, 2006; Новицкая, Кушнир, 2005; Новицкая, 2008). На настоящем этапе исследований большой интерес представляет изучение влияния различных концентраций сахарозы на камбиальный рост других древесных растений.

В 2006–2007 гг. на Агробиологической станции КарНЦ РАН была заложена серия экспериментов по введению растворов экзогенной сахарозы в ткани ствола осины (*Populus tremula* L.), ольхи серой (*Alnus incana* (L.) Moench) и березы повислой (*Betula pendula* Roth.). Концентрации растворов включали: 0% (дистиллированная вода), 1%, 2,5%, 5%, 10%, 20%. Введение растворов сахаров в камбиальную зону ствола проводили в соответствии с опубликованной методикой (Novitskaya, Kushnir, 2006). Растворы вводили ежедневно в течение 7 недель, начиная с 25 июня. Образцы для фиксации отбирали в конце того же вегетационного периода (октябрь), когда проводили эксперимент. Для микроскопического анализа из зоны эксперимента вырезали блоки, включающие ткани флоэмы и ксилемы. Содержание растворимых углеводов определи методом ВЭЖХ. В качестве контроля использовали ткани, расположенные на 25 см выше экспериментальной зоны.

В условиях эксперимента у всех исследованных пород максимальное содержание растворимых сахаров было зафиксировано в зоне камбия и проводящей флоэмы. При сравнении пород были выявлены существенные различия в составе сахаров в этой зоне. В тканях осины и ольхи накапливалась фруктоза. На микроскопическом уровне это проявлялось в увеличении доли клеток флоэмной паренхимы, содержащих крупную центральную вакуоль, в которой, по-видимому, и накапливались сахара. В целом, у осины и ольхи введение растворов сахарозы не оказывало негативного влияния на продукцию камбием элементов ксилемы и флоэмы.

У березы в прикамбиальной зоне присутствовала сахароза, фруктоза и глюкоза, причем содержание сахарозы существенно преобладало над уровнями моносахаров. Общий пул растворимых сахаров в прикамбиальной зоне березы был намного больше, по сравнению с осиной и ольхой. Накопление сахарозы в тканях березы повислой сопровождалось нарушением структуры проводящих тканей. Повышение концентрации раствора вызывало увеличение приростов флоэмы и уменьшение приростов ксилемы. В ксилеме происходило значительное снижение как числа, так и диаметра сосудов. Высокие концентрации экзогенной сахарозы (20%) вызывали существенные морфогенетические преобразования тканей – свилеватость проводящих элементов ксилемы, гипертрофированное разрастание лучевой паренхимы, значительное усиление степени паренхиматизации ксилемы и флоэмы.

Полученные данные свидетельствуют о том, что почти вся поступившая в ткани осины и ольхи сахароза метаболизировалась. Дополнительный анализ содержания растворимых сахаров в тканях исследованных пород, проведенный в 2011-2012 гг., показал, что одной из причин может быть разница в исходном, т.е. до введения растворов, уровне сахаров в клетках: у осины и ольхи он существенно ниже, чем у березы. Поэтому даже в условиях дополнительного введения сахарозы ее накопления в тканях не происходило.

Кроме того, у ольхи и осины в ходе нормального развития сформировался механизм утилизации излишка сахаров через образование специфических структур в самой проводящей флоэме – волокон и склереид. В эксперименте мы наблюдали их дополнительное развитие в ответ на введение сахаров. Это дает основание полагать, что в норме у этих пород заложение волокон и склереид происходит в моменты некоторого повышения уровня сахаров в тканях. Очевидно, наличие данного механизма позволяет регулировать уровень сахаров путем заложения слоев волокон (осина) или очагов склереид (ольха) в проводящей флоэме без нарушения общей структуры тканей.

Накопление сахарозы в тканях ствола березы в условиях эксперимента указывает на то, что резерв метаболизации дисахарида у этой породы исчерпан, поэтому растение вынужденно утилизировать ее избыток через подключение помимо биохимических, также и структурных механизмов, включая увеличение объема запасающей ткани. Это выражается в дифференциации материнских клеток ксилемы и флоэмы в клетки запасающей паренхимы, что ведет к нарушению типичного для вида строения проводящих тканей.

АНТИПАТОГЕННЫЙ ФЕНОМЕН ЦИКЛОГЕКСИМИДА

Antipathogenic phenomenon of the cycloheximide

Тарчевский И.А., Егорова А.М.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук, Казань, Россия; Tarchevsky@kibb.knc.ru

При исследовании влияния салициловой кислоты (СК) на протеомы корней гороха мы обнаружили как повышение содержания ряда белков, так и появление белков, отсутствовавших в контрольном варианте. Использование ^{14}С-аминокислот позволило сделать вывод, что главной причиной отмеченного выше следствия обработки корней СК является активация синтеза, а не ингибирование протеолиза СК-индуцируемых белков. Для подтверждения этого вывода мы решили использовать ингибитор синтеза белков – циклогексимид (ЦГ), так как СК-индуцируемые белки кодируются ядерными генами и транслируются с помощью цитоплазматических рибосом. Кроме того, протеомный анализ влияния ЦГ привлек внимание в связи с тем, что таких исследований еще не проводилось.

Было обнаружено, что ЦГ (10 мкМ) не изменял содержание более 90% белков, но вызывал снижение содержания около 30 белков, что было связано, по-видимому, с тем, что они имели сравнительно непродолжительное время жизни. Идентификация этих белков показала, что большая часть из них участвует в белковом метаболизме (синтезе, фолдинге и деградации). Наблюдалось также полное прекращение под влиянием ЦГ вызываемого СК образования белков, отсутствовавших в контрольном варианте корней.

Парадоксальным было вызванное ЦГ повышение содержания более 25 белков. Большинство из них связано с защитными функциями, являясь, главным образом, ферментами фенилпропаноидного метаболизма – тех его ветвей, которые завершаются синтезом антипатогенных фитоалексинов (халконредуктаза, халконфлафонредуктаза, халконфлавонизомераза, изофлавонредуктаза, софоролредуктаза) и лигнина (кофеоил-КоА-метилтрансфераза). Так как фитоалексины и лигнин относятся к числу фенольных производных, а почвенные патогенные грибы вызывают в корнях растений накопление фенольных соединений, то есть основание для выдвижения гипотезы об антипатогенном эффекте ЦГ. Обсуждаются возможные причины этого феномена.

Работа поддержана грантом РФФИ № 13-04-00324а.

ДЕГИДРИНЫ ХВОЙНЫХ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ КРИОЛИТОЗОНЫ

Dehydrins of coniferous plants under the conditions of cryolithic zone

Татаринова Т.Д., Перк А.А., Бубякина В.В., Пономарев А.Г., Васильева И.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологических проблем криолитозоны Сибирского отделения Российской академии наук, Якутск, Республика Саха (Якутия), Россия
anaponomarev@yandex.ru

Хвойные древесные растения являются основными лесообразующими видами на Северо-Востоке Сибири, из которых лиственница как доминирующая порода занимает более 79%, а сосна – около 7% лесопокрытой территории Республики Саха (Якутия). В условиях криолитозоны Якутии главными абиотическими факторами, определяющими выживаемость растений, являются сверхнизкие зимние температуры и многолетняя мерзлота. В этой связи, весьма актуальным представляется изучение механизмов биохимической адаптации, способствующих формированию морозоустойчивого состояния хвойных древесных видов в уникальных условиях Якутии. Среди стрессовых белков, участвующих в адаптации растений к низким отрицательным температурам, особая роль отводится дегидринам, вероятной функцией которых является участие в защите мембран и белков от повреждений, вызванных потерей влаги.

Целью настоящей работы явилось изучение особенностей полиморфизма и сезонных изменений дегидринов хвои сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) и побегов лиственницы Каяндера (*Larix cajanderi* Mayr.) в условиях криолитозоны Центральной Якутии.

Сбор материалов в 2009-2014 гг. проводили ежемесячно в лесопарковой зоне Ботанического сада ИБПК СО РАН (г. Якутск, 62°15' с.ш., 129°37' в.д.). Выделение белков из хвои второго года сосны обыкновенной и однолетних побегов лиственницы Каяндера (по 14 экземпляров растений каждого вида) проводили по Коротаевой и др. (2012), аналитический электрофорез и блоттинг белков осуществляли согласно принятым методикам. Идентификацию дегидринов выполняли с помощью поликлональных антител против их консервативного K-сегмента («Agrisera», Швеция).

Впервые с использованием специфических антител в хвое *P. sylvestris* и побегах *L. cajanderi* в условиях криолитозоны обнаружены стрессовые белки-дегидрины. Мажорные дегидрины хвои сосны распределены, в основном, в двух областях: низко- (мол. масса 15 кДа) и среднемолекулярной (мол. масса 66 кДа). У деревьев сосны в период зимнего покоя выраженный полиморфизм дегидринов не был выявлен, различия между растениями проявлялись только в количественном содержании 15 и 66 кДа дегидринов. Анализ сезонных изменений дегидринов показал, что в годовом цикле сосны среднемолекулярный 66 кДа дегидрин представлен во все сезоны с некоторым уменьшением во время вегетации. В отличие от 66 кДа дегидрина, сезонная динамика была более выражена у низкомолекулярного 15 кДа дегидрина, который полностью исчезал в летние месяцы и появлялся вновь в начале осени (август-сентябрь) при подготовке к зимнему покою, что предполагает его вероятную связь с формированием морозоустойчивости растений. Данный дегидрин достигал относительно постоянного уровня в конце фенологической осени (октябрь) в Центральной Якутии. В дальнейшем в зимние месяцы, когда отмечались наиболее низкие отрицательные температуры, дегидрины с мол. массами 15 кДа и 66 кДа оставались на стабильно высоком уровне.

Существенной особенностью дегидринов побегов лиственницы, в отличие от изученных нами ранее спектров дегидринов ряда видов берез, а также сосны обыкновенной, ольховника кустарникового и других видов древесных растений, является их необычайно высокое разнообразие. У приведенных выше видов деревьев дегидрины представлены, в основном, 2 группами белков: низко- (мол. масса 15-25 кДа) и среднемолекулярных (мол. масса 50-75 кДа), тогда как у лиственницы Каяндера наблюдался почти непрерывный их спектр в области 14-45 кДа. При этом наибольшие качественные и количественные различия по дегидринам между отдельными экземплярами лиственниц отмечались в области 19-37 кДа. С другой стороны, ход сезонных изменений дегидринов лиственницы Каяндера в целом аналогичен таковым сосны обыкновенной и березы повислой. Так, для лиственницы также свойственны накопление дегидринов в период осенней подготовки растений к покою, их высокий уровень в зимние месяцы (ноябрь-март) и затем спад весной (апрель-май). Вместе с тем, дегидрины в летний период количественно претерпевают значительно большее по уровню снижение, особенно низкомолекулярные, но не исчезают полностью.

Таким образом, впервые в хвое *P. sylvestris u* побегах *L. cajanderi*, произрастающих в условиях криолитозоны Центральной Якутии, выявлены стрессовые белки-дегидрины со стабильно высоким содержанием в период зимнего покоя деревьев. Предполагается, что дегидрины могут быть ассоциированы с формированием устойчивости древесных растений к экстремально низким температурам, и вследствие этого, могут быть использованы в качестве ее непрямых стресс-маркеров.

ГЕНЫ *WOX* И *PIN MEDICAGO TRUNCATULA*: УЧАСТИЕ В СОМАТИЧЕСКОМ ЭМБРИОГЕНЕЗЕ

Medicago truncatula WOX and *PIN* genes: participation in somatic embryogenesis

Творогова В.Е., Лебедева М.А., Лутова Л.А.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; krubaza@mail.ru

Соматический эмбриогенез – развитие эмбрионов из соматических клеток - встречается в природе достаточно редко, однако существует много видов растений, для которых возможна индукция этого процесса в условиях *in vitro*. Такие условия обычно включают в себя культивацию эксплантов растений на среде с высоким содержанием ауксина – это приводит к формированию каллуса. Затем при культивации на среде с более низким содержанием экзогенного ауксина на поверхности каллуса формируются соматические эмбрионы. Соматические эмбрионы становятся хорошо заметными начиная с глобулярной стадии. Более ранние стадии развития, на которых эмбрион состоит из одной или нескольких клеток, обычно сложно визуализировать, поэтому остается открытым вопрос о том, каким образом определяются отдельные клетки каллуса, которые дадут начало соматическим эмбрионам.

Известно, что некоторые транскрипционные факторы группы WOX являются регуляторами ранних стадий зиготического эмбриогенеза. Кроме того, в ряде исследований показано, что градиент ауксина, создаваемый транспортерами группы PIN, играет важную роль как в соматическом, так и в зиготическом эмбриогенезе. Показано, что некоторые транспортеры PIN участвуют в развитии зиготических эмбрионов.

Мы предположили, что в ранних этапах соматического и зиготического эмбриогенеза участвуют одни и те же гены *WOX* и *PIN*.

В качестве модельного объекта мы использовали *Medicago truncatula*. Для данного вида выведены линии, контрастные по способности к соматическому эмбриогенезу.

Мы выявили три гена *WOX* и три гена *PIN Medicago truncatula,* с повышенным уровнем экспрессии в семязачатках. Эти данные, а также анализ филогенетических деревьев групп WOX и PIN, позволили предположить, что эти шесть генов напрямую или опосредованно участвуют в зиготическом эмбриогенезе. Мы измерили уровни их экспрессии в ходе соматического эмбриогенеза, и выявили, что три гена *WOX* и один ген *PIN* с повышенным уровнем экспрессии в семязачатках также активируются и в ходе образования соматических эмбрионов. В то же время, ни один из исследованных генов *WOX* и *PIN* с пониженным уровнем экспрессии в семязачатках не демонстрировал активации в ходе соматического эмбриогенеза. Полученные данные позволяют предположить, что ранние этапы соматического и зиготического эмбриогенеза контролируются с помощью одних и тех же регуляторных механизмов.

В настоящее время ведется работа по созданию трансгенных растений для локального анализа экспрессии исследуемых генов.

Работа выполнена при поддержке грантов Российского Фонда Фундаментальных Исследований № 13-04-02140 и 14-04-00591-а, грантов Санкт-Петербургского Университета № 1.38.676.2013 и 0.37.526.2013 и гранта президента РФ по поддержке ведущих научных школ № НШ-5115.2014.4.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ *SALIX SCHWERINII* E. WOLF ДЛЯ ФИТОРЕМЕДИАЦИИ ТЕХНОГЕННЫХ ТЕРРИТОРИЙ ОАО «КАРЕЛЬСКИЙ ОКАТЫШ» (РОССИЯ)

Using of *Salix schwerinii* E. Wolf for phytoremediation of contaminated industrial territories of Ore Mining and Processing Enterprise «Kostomukshsky» (OMPE, Kaleval region of Karelia Republic, Russia)

ТребоваЕ.Н.[1], Марковская Е.Ф.[1], Андросова В.И.[1], Кайбияйнен Э.Л.[2]

[1] *ФГБОУ ВПО «Петрозаводский государственный университет», Петрозаводск, Россия*
eterebova@gmail.com
[2] *Университет Восточной Финляндии, Йоэнсуу, Финляндия; erik.kaipiainen@uef.fi*

Работа выполнена на техногенных территориях ОАО «Карельский окатыш» (Россия, Республика Карелия, г. Костомукша). Основными компонентами выбросов этого горно-обогатительного комбината являются диоксид серы (среднегодовая концентрация 0,03 мг/м^3), пылевые выбросы, содержащие тяжелые металлы, оксид углерода и окислы азота. Наиболее загрязненными являются субстраты пульпохранилища, но их агрохимические свойства предположительно могут обеспечить растения-фиторемедианты необходимыми питательными элементами. В качестве фиторемедианта были использованы черенки ивы Шверина – *Salix schwerinii* E.Wolf (Финляндия), которые были высажены в мае 2012 г. на наиболее загрязненной территории комбината - пульпохранилище (близкие к ПДК содержание никеля, железа, магния и низкое содержание меди, цинка, свинца, кадмия, азота, калия, углерода). Сбор растительных образцов производили в августе 2013 г. На территорию пульпохранилища происходит сброс техногенной воды с отстойника комбината, которая богата азотом, калием, медью, кальцием и цинком, и ее использование перспективно для улучшения питательной ценности техногенного субстрата. Для контроля, чтобы избежать почвенного и воздушного загрязнения, растения выращивались в условиях вегетационного опыта в сосудах объемом 3 л на чистом субстрате состоящим из трех частей песка и одной части торфа, которые поливались ежедневно дистиллированной водой. Длительность опыта – один вегетационный период (май – август 2013 г).

Опытная территория пульпохранилища очень гетерогенна по гранулометрическому и минералогическому составу, а также по доступности к сточным водам, что привело к разной ростовой реакции высаженных черенков растений *Salix schwerinii*. Визуально выделялись две группы опытных растений ив: группа (ВПБ) – более высокие растения, без повреждений, с высокой биологической продуктивностью и высоким уровнем жизненного состояния и группа (НПБ) – более низкие растения, с частичными повреждениями, низкой биологической продуктивности и ослабленной жизненностью. В каждой группе взяли пробы органов (корни, листья) и ткани (кора). Эти обе группы растений накапливали одинаковое количество тяжелых металлов, но различались по местам локализации тяжелых металлов: здоровые ивы с ВПБ – в корнях, а ослабленные с НПБ – в листьях. Установленная нами, дифференциация ивы по продуктивности, произраставших на техногенном субстрате с содержанием металлов ниже фоновых, и имевших сходный количественный результат накопления металлов, дает основание предполагать наличие активного метаболического поглощения в корнях, которое не зависело от функциональной активности растения. Однако существенные различия были выявлены по миграции и распределению этих элементов по растению и их депонированию отдельными органами. Депонирование тяжелых металлов (Pb, Cu, Fe, Co, Ni, Mn) корнями растении из группы ВПБ может свидетельствовать об их активной синтетической деятельности в направлении синтеза веществ, которые могут связывать металлы в клеточной стенке и/или транспортировать в вакуоли. Синтез энергии, необходимой для этих процессов, может происходит прямо в корнях растений с высокой ассимиляционной и ростовой активностью. Депонирование этих элементов в листьях растений ослабленной группы, по-видимому, связан с меньшими энергетическими затратами на их транспортировку в системе апопласта в условиях достаточного увлажнения (растения специально поливались). Этот способ актуален у растений с пониженной функциональной активностью.

Согласно коэффициенту биологического поглощения (КБП) ряд накопления тяжелых металлов в целом растении ив пульпохранилища следующий: Zn > Mn > Cd > Cu > Pb > Co > Ni=Cr >Fe. Этот ряд отличается от такого же ряда в условиях контроля: Mn > Zn > Cd > Cu > Pb > Co >Fe= Ni>Cr. Видно, что такие биофильные элементы как цинк, марганец, медь и кобальт достаточно активно поглощаются растением ивы из почв. Для этих элементов КБП больше 1. Тяжелый металл кадмий с высоким токсическим действием также активно поглощается (КБП 5-7). Для высокотоксичного элемента свинца КБП был равен 0,8-2,1. Никель, железо, по которым загрязнены субстраты пульпохранилища, имеют низкую биодоступность для ив. Для этих элементов КБП меньше 1. Можно отметить, что в целом произошло увеличение КБП для элементов в условиях пульпохранилища, по сравнению с контролем. Это увеличение поглощения элементов, возможно, связано с оптимизацией минерального питания ив на бедных субстратах пульпохранилища.

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ВЫЯВЛЕНИЯ ЦИТОКИНИНОВ В КЛЕТКАХ ЛИСТА КАК СПОСОБ ДЕТЕКЦИИ ФОРМ ЦИТОКИНИНОВ, ТРАНСПОРТИРУЕМЫХ ИЗ ПОБЕГА В КОРЕНЬ

Immunohistochemical detection of cytokinins in leaf cells as an approach for revealing cytokinin form transported from shoots to roots

Тимергалина Л.Н.[1], Ахиярова Г.Р.[1], КудояроваГ.Р.[1], ВеселовС.[2]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Уфимский Институт биологии Российской академии наук, Уфа, Республика Башкортостан, Россия;* leinaz@mail.ru;

[2] *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Башкирский государственный университет», Уфа, Республика Башкортостан, Россия*

Транспорт гормонов обеспечивает обмен сигналами между органами растений и координацию процессов на уровне целого организма. Поскольку цитокинины могут синтезироваться как в корнях, так и побегах, представляет интерес изучение механизмов, контролирующих их циркуляцию по растению. Накоплено немало сведений о присутствии разных форм цитокининов в ксилемном соке и обсуждается их роль в качестве корневых сигналов, регулирующих функции побега. Сведений о флоэмном транспорте цитокининов гораздо меньше, что объясняется сложностью сбора флоэмного экссудата из-за закупорки флоэмных сосудов каллозой при нарушении их целостности. Мы проследили распределение вводимых извне цитокининов (изопентениладенина и зеатина) в тканях листа семисуточных растений пшеницы, обращая внимание на их накопление в области сосудов. Для раздельного выявления свободных оснований и рибозилированных форм цитокининов на срезах листа применялись два варианта фиксации. В первом случае с помощью метапериодата натрия с белками конъюгировали формы цитокининов, содержащие остатки сахаров. Поскольку, по предварительным данным, в тканях растений пшеницы этого возраста содержание глюкозидов было низким, такой способ обеспечивал фиксацию рибозидов цитокининов. Снижение уровня конъюгирования свободных оснований во время последующей фиксации параформальдегидом достигалось за счет повышения pH буфера до 9,6 (в предварительных модельных опытах было показано, что повышение pH резко снижает конъюгацию свободных оснований с белками). Альтернативный способ, обеспечивающий конъюгацию свободных оснований, был основан на применении смеси параформальдегида с глутаровым альдегидом при нейтральных значениях pH. В серии разведений этанола осуществляли дегидратацию образцов, после чего их заключали в смолу. Готовили срезы толщиной 1,5 мкм. Для выявления цитокининов в клетках листа использовали специфические антитела, полученные к гормонам при иммунизации кроликов. Затем на срезы последовательно наносили конъюгат коллоидного золота с антителами против иммуноглобулинов кролика и серебряный усилитель. Параллельно часть срезов обрабатывалась сывороткой, не содержащей антитела к исследуемым цитокининам. Отсутствие окрашивания в данном случае являлось подтверждением специфичности иммунного окрашивания. Параллельно с фиксацией листьев для иммуногистохимического анализа, оценивался уровень диффузии различных форм цитокининов из срезанных листьев (закупорка флоэмных сосудов предотвращалась за счет добавления в раствор этилендиаминтетрауксусной кислоты, хелатирующей ионы кальция). Количественное содержание цитокининов в листьях, корнях и диффузате оценивалось с помощью иммуноферментного анализа с использованием специфических антител к производным зеатина и изопентениладенина (ИП). При обработке листьев как ИП, так и зеатином, содержание цитокининов возрастало в самом листе, в диффузате и корнях, что свидетельствует об их поступлении в листья и транспорте по флоэме в корень. Поскольку считается, что у двудольных растений цитокинины транспортируются по флоэме в виде производных ИП, представляло интерес проследить судьбу поступившего в лист зеатина. У обработанных зеатином листьев возрастало содержание не только свободного зеатина, но и его рибозида, что свидетельствует о метаболизации экзогенного гормона. В диффузате преобладающей формой был рибозид зеатина. Иммуногистохимическое окрашивание на цитокинины показало увеличение интенсивности окрашивания клеток срезов листьев, обработанных экзогенным гормоном. Усиление окрашивания было гораздо более заметным в области сосудов у срезов листьев, фиксированных с помощью периодата, обеспечивающего конъюгацию рибозида зеатина.

Таким образом, как выявленное нами повышение концентрации рибозида зеатина в диффузате из листьев пшеницы, обработанных зеатином, так и преимущественное окрашивание клеток вокруг сосудов на рибозид зеатина, свидетельствует о том, что зеатин может транспортироваться из побега в корни в виде рибозида. Тот факт, что при обработке листьев зеатином в диффузате было обнаружено преимущественное повышение уровня его рибозида, указывает на роль метаболизма цитокининов для регуляции их транспорта.

Работа выполнена при частичной поддержке гранта РФФИ 13-04-00666.

СТЕВИОЗИД – НОВЫЙ ПРИРОДНЫЙ РЕГУЛЯТОР РОСТА И УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ

Stevioside – the new natural plant growth and resistance regulator

Тимофеева О.А., Невмержицкая Ю.Ю., Михайлов А.Л., Стробыкина А.С., Шаймуллина Г.Х.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Казань, Республика Татарстан, Россия
Olga.Timofeeva@kpfu.ru

Расширение диапазона адаптационных возможностей растений и повышение их урожайности и выносливости к неблагоприятным природно-климатическим факторам окружающей среды возможно путем направленной модификации основных клеточных и молекулярно-генетических ответов растений на экострессы с помощью регуляторов роста природного происхождения. Расшифровка молекулярных механизмов действия регуляторов роста позволяет вести целенаправленный синтез и отбор эффективных препаратов, увеличивающих стресс-устойчивость и продуктивность растений, разработку технологий, включающие способы обработки растений, подбор доз и выбор фенофазы растений для их применения в рамках существующих технологий производства культур.

В работе проведен скрининг регуляторов роста дитерпеноидной природы – природных и химически модифицированных производных стевиола (прекурсора гиббереллловой кислоты в растениях стевии). Выявлена взаимосвязь между структурой и физиологической активностью производных стевиола, сортоспецифичность действия отобранных препаратов, подобраны оптимальные концентрации производных стевиола для стимуляции роста и устойчивости растений пшеницы. Среди проанализированных соединений отобран препарат – стевиозид, который наиболее эффективно стимулировал рост растений пшеницы и их устойчивость к абиотическим (низкие температуры, тяжелые металлы) и биотическим (грибная инфекция) стрессорам. Обнаружено, что стевиозид повышал устойчивость к тяжелым металлам, в том числе, уменьшая их поступление в растения, вероятно, за счет активации секреции в прикорневую зону защитных соединений, в частности, лектинов. Для защиты при заражении возбудителем фузариозной гнили корней злаковых стевиозид стимулировал пассивный иммунитет растений, а для защиты от неспецифического патогена *Aspergillius niger* – активный (уменьшая интенсивность перекисного окисления липидов за счет активации антиоксидантных ферментов).

ИНТЕГРАЦИЯ РОСТА И ФОТОСИНТЕЗА В РАСТЕНИЯХ АБРИКОСА

Interaction of growth and photosynthesis in apricot plants

Титова Н.В.

Институт генетики, физиологии и защиты растений Академии наук Молдовы, Кишинев, Республика Молдова; nvtitova1941@gmail.com

В последнее время в плодоводстве Молдовы ведется усиленный поиск и внедрение новых сортов плодовых растений с высокой продуктивностью и устойчивостью, в том числе и абрикоса, особенно чувствительной культуры к меняющимся условиям среды. Знание физиологических и биохимических особенностей растений, формирования и функционирования фотосинтетического аппарата разных сортов таких растений становится особенно важным. Как известно, рост и фотосинтез определяют характер онтогенеза растения, формирование урожая определяется в конечном итоге эпигенетическими событиями: новообразование и развитие, физиологическое состояние донорных и акцепторных органов. Изучение взаимоотношений донор-акцептор у перспективных сортов представляет интерес для идентификации индивидуальных характеристик разных сортов абрикоса. Задача работы – мониторинг особенностей ростовых и фотосинтетических ответов новых перспективных сортов абрикоса на запросы аттрагирующих центров в течение периода вегетации.

Исследования проводили в 2013-2014 гг. с новыми перспективными сортами абрикоса двух- и трехлетнего возраста с разным сроком созревания плодов, произраставшими в лизиметрах Института: ранний сорт американского происхождения NJA-32, сорт Олимп среднего срока созревания и позднеспелый сорт Сирена из Румынии. Изучали динамику роста растений в процессе вегетации, интенсивность фотосинтеза листьев в токе атмосферного воздуха с помощью прибора LCI (Англия), эффективность работы фотосистемы II на флуориметре PAM 2100, а также общую продуктивность и урожайность растений.

Были выявлены особенности роста однолетних побегов и листьев исследуемых сортов в течение вегетационного сезона. Наиболее интенсивный рост побегов происходит с середины мая и продолжается до начала июля. Более выражено это у раннеспелого сорта NJA-32 (с меньшим количеством плодов в сравнении с другими сортами). У сортов Олимп среднего срока созревания и позднего - Сирена, с большим урожаем, динамика роста побегов и листьев идентична с сортом NJA-32, но длина побегов значительно меньше. Здесь сказывается аттрагирующий запрос растущих побегов, завязей и затем развивающихся плодов у разных сортов. Сезонная динамика роста листьев, их длина, диаметр и соответственно площадь каждого листа были близкими у всех исследуемых сортов. В то же время масса, площадь и удельная поверхностная площадь листьев у раннего сорта NJA-32 превышали эти величины у сорта Олимп и в особенности у позднеспелого сорта Сирена с обильным урожаем. Так, площадь листьев на одном растении к концу вегетации составляла у них соответственно 8,8; 7,2 и 5,8 $м^2$.

Сравнительная характеристика интенсивности фотосинтеза листьев у разных сортов абрикоса выявила прямую связь этих процессов с урожайностью абрикоса. У раннеспелого сорта NJA-32 с меньшей нагрузкой плодами значения фотосинтеза ниже, чем у растений с урожаем – сортов Олимп и в особенности Сирена. В период интенсивного роста плодов в начале июля они равнялись в среднем соответственно 1,85; 4,14 и 5,90 мкмоль $CO_2 \cdot м^{-2} \cdot с^{-1}$. Такие же отличия между сортами оставались до конца созревания плодов. Наиболее нагруженный плодами сорт Сирена более чем в 2,5 раза превосходил по фотосинтезу растения сорта NJA-32.

Данные по интенсивности газообмена находятся в соответствии с показателями флуоресценции листьев, которые отражают функциональную активность фотосинтетического аппарата на уровне донорно-акцепторных отношений в хлоропласте. Главные показатели флуоресценции – Y (эффективность фотосинтеза) и ETR (скорость транспорта электронов между реакционными центрами фотосистемы I и фотосистемы II) тесно связаны с особенностями сортов в онтогенезе. В июне во время усиленного роста листьев, побегов и роста завязей и плодов ранний сорт NJA-32 характеризуется более высокими значениями этих показателей в сравнении с сортами среднего и позднего срока созревания Олимп и Сирена. В начале июле после сбора урожая у сорта NJA-32 эффективность фотосинтеза снижается и достигает уровня, близкого к уровню у остальных сортов. Как правило, Y и ETR повышены у позднеспелых сортов и в особенности у растений сорта Сирена с обильным урожаем.

Физиологические и биохимические свойства сорта в значительной степени зависят от мощности аттрагирования потребляющих органов. Важнейшими аттрагирующими органами у плодовых растений являются плоды. Установлено, что вес одного плода у исследуемых сортов абрикоса практически не отличается и составляет около 50 г. В то же время количество плодов у позднеспелого сорта Сирена существенно превосходит значения у сортов NJA 32 и Олимп, вследствие чего общий урожай у сорта Сирена превосходит урожайность у других сортов на 20-22%.

Проведенные исследования выявили особенности интеграции ростовых процессов и активности фотосинтетической системы на протяжении развития растений в период вегетации у трех новых перспективных сортов абрикоса, отличающихся сроком созревания плодов. Выявлены особенности донорно-акцепторных взаимоотношений в исследуемых растениях абрикоса на уровне лист – побег - плод.

ВОЗМОЖНОСТИ НОВОЙ МЕТОДИКИ ИЗМЕРЕНИЯ СКОРОСТИ КСИЛЕМНОГО ПОТОКА

The advantages of new method for sap flow velocity measurement

Тихова Г.П.[1], Павлов А.Г.[2], Сазонова Т.А.[1], Придача В.Б.[1]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт леса Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия; thikhovag@gmail.ru*
[2] *ООО «ИнтелТек Лаб», Петрозаводск, Россия; tss@karelia.ru*

Все множество используемых в настоящий момент методик измерения ксилемного потока можно условно разделить на три основных категории. Это измерения на основе определения скорости распространения тепловых импульсов (HPV), эмпирические оценки параметров термической диссипации и техника измерения потока методом регистрации деформации температурного поля. Неоднократно проводились попытки объективного сравнения точности получаемых данных и сопоставления достоинств и недостатков этих подходов. Наиболее корректным и информативным сопоставлением на данный момент представляется исследование авторов (Steppe et all., 2010). В результате были выявлены существенные недостатки всех исследованных методик, приводившие к ошибкам в измерениях, достигающих 60%. Принимая во внимание результаты, как этого исследования, так и многих других, предлагается новый, гибридный метод измерения с использованием техники встречных импульсов, позволяющий увеличить точность получаемых результатов. Целью настоящего исследования является разработка новой методики измерения скорости ксилемного потока и построение математической модели предлагаемого подхода, с последующим определением его ожидаемой точности и потенциальных границ применения.

При разработке новой методики в качестве прототипов датчиков были использованы конструктивные решения, разработанные авторами существующих методик. Исследование потенциальных возможностей и ограничений предложенного метода проводилось с помощью математического моделирования с применением конечно-разностных схем при вариации параметров взаимного расположения датчиков и временных соотношений определяющих логику формирования тепловых импульсов.

В основе предложенного метода лежат следующие конструктивные и теоретические особенности: измерительное оборудование совмещает в себе принципы методов регистрации скорости распространения тепловых импульсов и термодиссипации, а также реализует новый метод встречных тепловых импульсов (ВТИ); основным режимом работы измерителя является гибридный режим, при котором последовательно реализуются все три перечисленных метода измерения; при необходимости, блок логики измерителя может быть переключен в режим постоянного измерения по одной из методик; все датчики, используемые в системе, идентичны и объединяют в себе функции линейного нагревателя и точечного датчика температуры; с целью упрощения конструкции и сокращения времени на установку датчиков, количество датчиков и отверстий, необходимых для их установки, ограничено двумя, при работе в базовом режиме; для увеличения точности измерений может быть задействован дополнительный датчик; метод измерения скорости распространения тепловых импульсов модифицирован и позволяет использовать только два датчика-нагревателя, без необходимости устанавливать в отдельное отверстие отдельный нагревательный элемент; метод термодиссипации также модифицирован и позволяет использовать только один датчик-нагреватель.

Основанием для использования гибридной схемы измерений является предположение, что при совмещении темодиссипационной и HPV-методики появляется теоретическая возможность нивелировать некоторые недостатки и ограничения, свойственные каждой их этих методик в отдельности. Если в качестве базового режима использовать HPV-метод и соответствующий набор датчиков, то это позволяет существенно сократить энергопотребление измерительного блока по сравнению с методикой Granier и привязать получаемые данные к хорошо проработанной физической модели. При этом методика HPV ограничена необходимостью выполнять дополнительные разрушающие плотностные измерения. Однако если на том же наборе датчиков обеспечить реализацию метода Granier и дополнить его методом анализа встречных тепловых импульсов, то, выполнив совместный анализ полученных данных, можно устранить необходимость экспериментального определения параметров плотности ксилемной ткани. При проведении вычислительных экспериментов по математическому моделированию режимов работы описанной системы важно было определить уровень ошибок, возникающих при сокращении времени паузы между встречными импульсами, до приемлемых в полевых исследованиях значений. Для этого была создана модель, описывающая динамику тепловых процессов в объеме одного кубического дециметра ксилемной ткани. Полученные результаты математического моделирования показали, что при выборе разумного компромисса между частотой посылки импульсов и требуемой точностью выявления факта нулевого потока, применение гибридного метода измерения скорости ксилемного потока способно нивелировать известные недостатки используемых в настоящее время подходов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 13-04-00827-а).

ОПТИМИЗАЦИЯ АЛГОРИТМА КОСИНОР-АНАЛИЗА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ СУТОЧНОЙ И СЕЗОННОЙ ДИНАМИКИ ВОДНОГО ПОТЕНЦИАЛА ОБЫЧНОЙ БЕРЕЗЫ ПОВИСЛОЙ И КАРЕЛЬСКОЙ БЕРЕЗЫ

Optimizing of cosinor-analysis algorithm for studying diurnal and season dynamics of water potential in Karelian and silver birches

Тихова Г.П.[1], Сазонова Т.А.[1], Придача В.Б.[1], Павлов А.Г.[2]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт леса Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия; thikhovag@gmail.ru*

[2] *ООО «ИнтелТек Лаб», Петрозаводск, Россия; tss@karelia.ru*

Исследованиям по экофизиологии водного режима различных видов растений уделяется большое внимание. Наряду с этим недостаточно изученными являются механизмы регуляции водного обмена на уровне целого растения при изменяющихся факторах внешней среды. Одним из путей его изучения являются исследования взаимосвязей между показателями водного режима у различных видов растений в широком диапазоне внешних условий. Тренд сезонного мониторинга параметров водного режима позволяет предположить существование суточного ритма изменения этих величин с определенной амплитудой, периодом и сдвигом фазы относительно начала суток. Однако стохастическая природа данных требует применения вероятностных методов для анализа результатов, полученных в ходе наблюдений. Цель нашего исследования состояла в оптимизации алгоритма расчета параметров регрессионной кривой, где в качестве математической модели биоритма используется функция косинуса при условии известных значений периода и нулевого уровня колебания, для сравнительной оценки параметров модели сезонной и суточной динамики водного потенциала обычной березы повислой и карельской березы.

Исследование проводили на экспериментальных участках Института леса Карельского научного центра РАН (южная Карелия, 61°45 N, 34°20 E) в суточной динамике с интервалом в 3 ч с июня по сентябрь в дни с разными погодными условиями. Объектами исследования служили 5-летние саженцы обычной березы повислой (*Betula pendula* var. *pendula*) и карельской березы (*Betula pendula* var. c*arelica*). Водный потенциал (Y) в облиственных побегах определяли с помощью камеры давления Plant Moisture Vessel SKPM 1400 (Skye Instruments Ltd., Великобритания). Методы статистической обработки данных включали описательную статистику, автокорреляционный, дисперсионный, и регрессионный анализы. Уровень значимости для принятия гипотезы о статистической достоверности различия средних и других рассчитываемых статистик был принят равным 0,05 при мощности критериев, равной 0,80.

Результаты автокорреляционного анализа временного ряда позволили предположить, что ритмическая составляющая тренда водного потенциала (Y) составляет 24 ч, а дисперсионный анализ показал значимое различие ($p<0,05$) среднемесячных значений, что не позволило считать мезор константой на протяжении всего сезона. Была сформулирована аддитивная модель сезонной динамики Y изучаемых объектов, состоящая из двух компонент: линейной и колебательной. Величина мезора была определена как линейная функция, зависимая от переменной времени, рассчитываемая методом наименьших квадратов отдельно перед применением процедуры косинор-анализа. Суточная колебательная компонента определялась упрощенным методом косинор-анализа, так как единственными неизвестными параметрами биоритма оставались амплитуда колебания и акрофаза. Для оптимизации алгоритма косинор-анализа все измерения Y были центрированы путем вычитания соответствующего среднесуточного значения из каждой варианты. Результатами расчета параметров колебательной компоненты модели были два множества значений: акрофаза, рассчитанная относительно начала суток, и соответствующая ей суточная амплитуда центрированного тренда. Проведенный анализ показал, что акрофаза биоритма Y двух форм берез так же, как и амплитуда суточного колебания увеличивается в конце вегетационного периода. Кроме того, четко определяется тенденция снижения среднесуточного значения Y исследуемых форм берез. В результате моделирования сезонной и суточной динамики Y облиственных побегов березы карельской и обычной березы повислой были получены различия в некоторых параметрах двух моделей. Так, модельное представление изменения суточного среднего значения Y для березы карельской статистически достоверно ($p = 0,0054$) отличалось от модели того же параметра для обычной березы повислой. Этот же факт отмечен нами и в отношении моделирования сезонной динамики амплитуды суточного ритма Y, где полученное различие моделей также статистически значимо ($P<0,0001$). Однако аппроксимация сезонной динамики акрофазы не показала статистически достоверного различия между математическими моделями. Это свидетельствует о том, что фазовый сдвиг экстремального суточного значения Y у деревьев обычной березы повислой и карельской березы нарастает одинаково с приближением осеннего периода. Таким образом, математическое моделирование биоритмов показателей водного статуса может позволить более глубоко исследовать процессы регуляции водного режима растения и выявить такие внутри- и межвидовые различия, которые не фиксируются традиционными методами статистического анализа данных.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 13-04-00827-а).

ФОТОСИНТЕТИЧЕСКАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ В ЗАМКНУТЫХ СИСТЕМАХ ЖИЗНЕОБЕСПЕЧЕНИЯ

Photosynthetic productivity of higher plants in life support systems

Тихомиров А.А., Ушакова С.А., Тихомирова Н.А., Величко В.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биофизики Красноярского научного центра Сибирского отделения Российской академии наук, Красноярск, Россия; alex-tikhomirov@yandex.ru

Роль высших растений в замкнутых экосистемах (ЗЭС) носит полифункциональный характер. Следует выделить следующие основные функции высших растений в ЗЭС, которые требуют экспериментального контроля и регулирования: продуцирование кислорода для человека, обеспечение человека растительной пищей в рамках заданной растительной диеты, утилизация минерализованных органических отходов ЗЭС за счет приготовления питательных растворов для культивирования растений. У высших растений имеется еще целый ряд дополнительных функций, таких, например, как психофизиологический эффект для членов экипажа, выделение летучих выделений, оказывающих благотворное воздействие на организм человека и др. Однако главная задача для высших растений в ЗЭС – это обеспечение необходимого уровня их продукционного процесса, что позволяет достичь заданных значений всех основных функций, являющихся основой приемлемой среды обитания человека в ЗЭС. В докладе рассматривается влияние основных условий среды на фотосинтетическую продуктивность высших растений разных видов, составляющих в ЗЭС фотосинтезирующее звено. В условиях ЗЭС основными факторами, которые могут быть заданы при культивировании растений фототрофного звена, являются спектральные и энергетические характеристики фотосинтетически активной радиации (ФАР) и минеральное питание растений, источником которого являются несъедобные растительные отходы, а также экзометаболиты человека. Выбор спектральных и энергетических характеристик ФАР для оптимизации продукционного процесса высших растений применительно к ЗЭС основывался на концептуальном подходе, разработанном в ИБФ СО РАН. Этот подход основан на компромиссном выборе спектрального состава ФАР с учетом особенностей оптимизации световой среды для фитоценоза и глаза человека (членов экипажа ЗЭС) как приемников оптического излучения. При таком концептуальном подходе экспериментально показано, что компромиссным вариантом является излучение ФАР, близкое к равноэнергетическому. В основе выбора интенсивности ФАР для культивирования растений разных видов лежит известная концепция о более высоком световом насыщении фотосинтеза фитоценоза, чем отдельно взятого листа, с учетом возрастных и видовых особенностей растений. Наличие замкнутости искусственной экосистемы накладывает на нее ряд требований, среди которых одним из важнейших является необходимость вовлечения продуктов жизнедеятельности человека во внутрисистемный круговорот. Для реализации этого требования необходимо минерализовать органические отходы с последующим их использованием в качестве минерального питания для культивирования растений. Таким образом, возникает достаточно сложная проблема оптимизации минерального питания растений в ЗЭС по критерию заданного уровня продуктивности по хозяйственно полезной биомассе. Это связано с тем, что соотношение основных биогенов в минерализированной растительной биомассе и в подвергшихся физико-химической переработке экзометаболитах человека, достаточно далеко от идеального (например, от минерального состава классического раствора Кнопа). В этой связи рассматриваются научные основы технологий, способных удовлетворительно решить проблему оптимизации минерального состава питательных растворов, приготовленных при использовании минерализованных физико-химическим способом органических отходов в ЗЭС. Часть отходов несъедобной растительной биомассы подвергается биологическому окислению в почвоподобном субстрате (ППС). Скорость и эффективность такой минерализации растительных отходов сильно зависит от вида растений и технологии их предварительной обработки до внесения в ППС. Также рассмотрены возможности стабилизации концентрации NaCl с помощью растений – галофитов, обсуждаются перспективы использования ионообменных субстратов для поддержания концентрации питательных элементов на оптимальном для растений уровне.

В заключение приводятся основные продукционные характеристики ряда основных видов ценозов растений, образующих фототрофное звено ЗЭС, а также условия их культивирования с учетом особенностей использования световых технологий и технологий минерального питания применительно к ЗЭС.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №14-14-00599) в ИБФ СО РАН.

ПРОДУКЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ РАСТЕНИЙ *SALICORNIA EUROPAEA* L. В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИНТЕНСИВНОСТИ ФАР И КОНЦЕНТРАЦИИ NaCl ПРИМЕНИТЕЛЬНО К ИСКУССТВЕННЫМ ЭКОЛОГИЧЕСКИМ СИСТЕМАМ

Production characteristics of *Salicornia europaea* L. depending on PAR intensity and NaCl concentration as applied to artificial ecological systems

Тихомирова Н.А., Ушакова С.А., Шклавцова Е.С., Анищенко О.В., Михеева Ю.А., Тихомиров А.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биофизики Сибирского отделения Российской академии наук, Академгородок, Красноярск, Россия; n.tikhomirova@mail.ru

Изучали влияние разных интенсивностей ФАР и концентраций NaCl, характерных для замкнутой экологической системы жизнеобеспечения человека, на рост, CO_2-газообмен, минеральный состав, содержание МДА и фотосинтетических пигментов в растениях *Salicornia europaea* L. Культивирование растений проводили в условиях интенсивной светокультуры при разных сочетаниях уровней засоления питательного раствора (171, 342 и 513 мМ NaCl) и интенсивностей ФАР (690 или 1150 мкмоль/(м^2 с)) на растворе Кнопа методом водной культуры в течение 25 суток. Освещение круглосуточное, температуру воздуха поддерживали на уровне 24ºС. При интенсивности ФАР 690 мкмоль/(м^2 с) продуктивность растений с увеличением уровня засоления достоверно не отличалась; при 1150 мкмоль/(м^2 с) максимальная продуктивность была у растений при концентрациях NaCl, равных 171 и 342 мМ. Повышение концентрации NaCl в растворе от 171 до 513 мМ приводило к значимому увеличению относительного содержания Na в надземных органах растений при интенсивности ФАР 1150 мкмоль/(м^2 с). Наиболее высокое относительное содержание натрия было в надземных органах растений, выращенных при 513 мМ NaCl в растворе и интенсивности ФАР 1150 мкмоль/(м^2 с). В конце вегетации при интенсивности ФАР 1150 мкмоль/(м^2 с) содержание МДА в тканях надземной части растений в вариантах засоления 171 и 342 мМ NaCl было выше, чем при интенсивности ФАР 690 мкмоль/(м^2 с). Отмечали снижение содержания фотосинтетических пигментов в ассимиляционной ткани растений при увеличении уровня засоления от 342 до 513 мМ NaCl только при повышенной интенсивности ФАР 1150 мкмоль/(м^{2}с). Наиболее эффективным сочетанием интенсивности ФАР и уровня засоления питательного раствора для образования оптимальной продуктивности растений *Salicornia europaea* L. с максимальным содержанием Na является вариант 342 мМ NaCl и 1150 мкмоль/(м^2 с) ФАР.

ОСОБЕННОСТИ ЛИПОКСИГЕНАЗНОГО КАСКАДА У РАСТЕНИЙ РАЗНЫХ ТАКСОНОВ

Features of lipoxygenase cascade of different plant species

Топоркова Я.Ю., Смирнова Е.О., Ермилова В.С., Горина С.С., Мухтарова Л.Ш., Гоголев Ю.В., Гречкин А.Н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук, Казань, Россия; yanchens@yandex.ru

Липоксигеназный каскад является одной из важных сигнальных систем, в результате функционирования которого происходит образование физиологически активных веществ – оксилипинов. Оксилипины обнаружены у растений, грибов, животных, ризобактерий, протеобактерий, бурых и красных водорослей. Ключевыми ферментами липоксигеназного каскада, обеспечивающими разнообразие оксилипинов, являются липоксигеназы, катализирующие окисление жирных кислот с образованием соответствующих гидроперекисей, и цитохромы P450 семейства CYP74, ответственные за их дальнейшее превращение, к которым относятся алленоксидсинтазы (АОС), гидропероксидлиазы (ГПЛ), дивинилэфирсинтазы (ДЭС) и эпоксиалкогольсинтазы (ЭАС).

Исходя из данных филогенетического анализа семейства CYP74 и суперсемейства P450 в целом, можно заключить, что ферменты CYP74 являются наиболее древними из всех цитохромов P450. Это подтверждается тем, что в отличие от классических цитохромов P450, для функционирования ферментов CYP74 не нужны окислительно-восстановительные партнеры, либо молекулярный кислород. В связи с этим, в последовательностях ферментов CYP74 сайты, консервативные для монооксигеназ P450, отсутствуют. Кроме того, гем-связывающий домен ферментов CYP74 содержит дополнительный мотив из девяти аминокислотных остатков. С эволюционной точки зрения, делеция девяти аминокислотных остатков является более вероятным событием, чем встраивание. Появление ферментов CYP74 связано с накоплением молекулярного кислорода в атмосфере, в результате чего появилась необходимость избавления клетки от окисленных активными формами кислорода жирных кислот, входящих в состав мембран. Эти ферменты катализировали преобразование окисленных жирных кислот в различные соединения – оксилипины, которые впоследствии стали функционировать в качестве сигнальных молекул. Это подтверждает тот факт, что структура ряда ферментов CYP74 сходна со структурой каталаз. Таким образом, можно сделать предположение, что ферменты CYP74 являются предковыми по отношению к монооксигеназам суперсемейства P450.

Липоксигеназный каскад эволюционно отдаленных организмов сильно варьирует. Наиболее изученными ветвями липоксигеназного каскада являются алленоксидсинтазная, продуктами которой являются жасмонаты, и гидропероксидлиазная, результатом функционирования которой являются альдегиды и альдокислоты. Эти соединения являются характерными для всех наземных растений. В отличие от АОС и ГПЛ, ДЭС и ЭАС являются менее изученными ферментами. Например, дивиниловые эфиры и соответствующие ферменты обнаружены у небольшого числа видов растений, таксономически отдаленных друг от друга, что позволяет предположить, что эта ветвь липоксигеназного каскада является наиболее молодой из трех. Однако нами был изучен профиль оксилипинов плаунка *Selaginella moellendorfii*, в котором было обнаружено большое разнообразие дивиниловых эфиров. Нами клонированы и охарактеризованы две дивинилэфирсинтазы этого растения, катализирующие образование разных геометрических изомеров этероленовой кислоты. Т.о., у селагинеллы присутствуют ДЭС, в то время как отсутствует жасмоновая кислота (она появляется только у цветковых растений), что означает более позднее становление алленоксидсинтазной ветви каскада в том виде, в котором она присутствует у цветковых растений. До цветковых растений в алленоксидсинтазной ветви отсутствует редуктаза, и ветвь заканчивается реакцией синтеза циклопентенона, выполняющего в данном случае те же функции, что и жасмонаты у цветковых растений.

Нами были охарактеризованы ферменты липоксигеназного каскада некоторых видов высших растений, таких как кукуруза, лен-долгунец, соя, огурец, картофель, мох *Physcomitrella patens*, плаунок *S. moellendorfii* и бурая водоросль *Ectocarpus siliculosus*. Эти растения характеризуются разным количеством и набором ферментов CYP74. АОС и ГПЛ присутствуют у всех перечисленных наземных видов, в то время как ДЭС и ЭАС – лишь у некоторых. Кроме того, некоторые ферменты характеризуются большим количеством изоферментов, кодируемых семействами генов, тогда как другие ферменты – в единственном экземпляре. Методом ПЦР в реальном времени были изучены особенности экспрессии генов ферментов липоксигеназного каскада в разных условиях. Для определения функциональной значимости тех или иных ферментов гены, кодирующие их, были клонированы; соответствующие рекомбинантные ферменты охарактеризованы. Методом сайт-направленного мутагенеза было показано, что эволюция ферментов CYP74 шла, по-видимому, по направлению ЭАС ГПЛ АОС ДЭС. Полученные данные свидетельствуют, что функции липоксигеназного каскада, по-видимому, менялись в ходе эволюции. Сначала при появлении кислорода в атмосфере функции были связаны с защитой клетки от активных форм кислорода (ЭАС ветвь), затем – с фотосинтезом, а также первичной защитой от любых механических повреждений (ГПЛ ветвь). Впоследствии некоторые оксилипины приобрели функции сигнальных молекул (АОС ветвь). Самая новая в эволюционном плане функция связана с защитой растений от фитопатогенных бактерий (ДЭС ветвь).

Работа выполнена при частичной поддержке грантов РФФИ 14-04-01532 А, 15-04-08310 А, 15-04-04108 А, 13-04-40103-Н, МК-6529.2015.4 и НШ-1890.2014.4.

УРОВЕНЬ ТРАНСКРИПТОВ ГЕНОВ ПРО- И АНТИАПОПТОТИЧЕСКИХ БЕЛКОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ НА РАСТЕНИЯ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ТЕМПЕРАТУР

Pro- and antiapoptopic genes expression in plants under unfavorable temperatures

Топчиева Л.В., Таланова В.В., Титов А.Ф., Репкина Н.С., Нилова И.А., Венжик Ю.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия; topchieva67@mail.ru

В последние годы в разных компартментах растительных клеток обнаружены ферменты и белки, способные активировать или супрессировать программируемую клеточною смерть. Однако, роль про- и антиапоптотических белков, к которым относятся каспазоподобные цистеиновые протеиназы, метакаспазы, Bax, Bax ингибитор, также как и значение программируемой гибели клеток в ответных реакциях растений на действие тех или иных биотических и абиотических факторов изучена далеко не полно. Учитывая это, цель данной работы состояла в исследовании уровня транскриптов генов про- и антиапоптотических белков при действии на растения высоких и низких температур.

В ходе работы изучена динамика содержания транскриптов генов про- (*McaII*, *Bax*) и антиапоптотического (*BI-1*) белков у растений пшеницы (*Triticium aestivum* L.) при воздействии низких (4 и -2°С) и высоких (33, 37 и 43°С) закаливающих и повреждающих температур. Показано, что характер изменения уровня транскриптов этих генов в листьях зависит от интенсивности и характера (закаливающее или повреждающее) температурного воздействия на растения. Так, под влиянием закаливающей температуры 4°С происходило постепенное повышение устойчивости растений, сопровождающееся накоплением транскриптов генов *McaII*, *Bax* и *BI-1*. При повреждающей температуре -2°С устойчивость и уровень мРНК этих генов, наоборот, снижались. Воздействие высоких закаливающих температур 33° и 37°С приводило к повышению теплоустойчивости растений, которая по достижению максимума сохранялась на достигнутом уровне. Содержание транскриптов гена *BI-1* при этом возрастало уже в начальный период теплового закаливания и в дальнейшем практически не изменялось. Установлены особенности накопления мРНК гена *Bax* в зависимости от интенсивности закаливающей температуры: при 37°С максимальный уровень транскриптов в листьях был выше и достигался значительно быстрее, чем при 33°С. При продолжительном тепловом закаливании содержание мРНК гена *Bax* снижалось, тем не менее, превосходя уровень контрольных растений. Характер изменения уровня транскриптов гена *McaII* в условиях теплового закаливания несколько отличался от динамики накопления мРНК гена *Bax*. Повышение содержания транскриптов гена *McaII* наблюдали только после суточного воздействия температур 33° и 37°С, т.е. значительно позже, чем гена *Bax*. При повреждающей температуре 43°С первоначально происходил быстрый рост теплоустойчивости и многократное повышение содержания транскриптов изученных генов, который затем сменялся резким снижением этих показателей.

На основании анализа динамики холодо- и теплоустойчивости, а также экспрессии генов *McaII*, *Bax* и *BI-1* сделан вывод, что разные по интенсивности и характеру воздействия на растения низкие и высокие температуры вызывают неодинаковые как в количественном, так и в качественном отношении изменения не только устойчивости растений, но и в экспрессии генов про- и антиапоптотических белков, которые, по-видимому, являются одной из составляющих реакции растений на действие неблагоприятных температур.

ГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ РОСТА КОРНЕЙ РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ ПРИ ДЕФИЦИТЕ ФОСФОРА И РАЗБАВЛЕНИИ ПИТАТЕЛЬНОГО РАСТВОРА

Hormonal regulation of barley root growth under phosphorus deficit and dilution of nutrient solution

Трекозова А.В, Высоцкая Л.Б., Кудоярова Г.Р.

Уфимский Институт биологии РАН, Уфа, Россия; vysotskaya@anrb.ru

В настоящее время все больший интерес вызывают исследования роли гормонов в ростовой реакции корней, направленной на оптимизацию поглощения элементов минерального питания. Анализ этих данных показал, что в основе большинства современных работ лежат опыты с мутантными или трансгенными растениями арабидопсиса с нарушениями гормонального метаболизма или сигналинга, или с нарушениями ростовой реакции на дефицит того или иного макроэлемента. Недостаточность косвенных подходов в этих экспериментах и необходимость оценки уровня эндогенных гормонов и их перераспределения в растении стало очевидным, поскольку ростовая реакция корней зависит от условий выращивания растений и меняется со временем. Задача выявления роли гормонов в регуляции ростового ответа на уровень и распределение элементов минерального питания усложняется еще и тем, что свою регуляторную функцию гормоны осуществляют во взаимодействии друг с другом, что диктует необходимость анализа нескольких гормонов одновременно.

Нами изучена ростовая реакция растений ячменя *Hordeum vulgare* сорта Прерия, семена которых проращивали на 10%-ном растворе Хогланда-Арнона (Х-А). Проростки с зерновкой переносили на светоплощадку, помещая их прямо на плотиках в сосуды с питательными растворами: 10%-ный Х-А (контроль), 1%-ным Х-А (тотальный дефицит макросолей), 10%-ный Х-А без KH_2PO_4 (дефицит фосфора) и 10% Х-А, в котором KH_2PO_4 был заменен на NaH_2PO_4. Несмотря на наличие зерновки, разбавление питательного раствора к 4-5 дню вызывало характерную для дефицита питания реакцию – более выраженное торможение накопления массы побега (относительная активация роста корней), которому предшествовало накопление АБК в побегах и снижение содержания зеатина в побегах и корнях по сравнению с контрольными растениями (10% Х-А). Эти данные согласуются с полученными нами ранее в экспериментах с растениями пшеницы. Удаляя из среды фосфат мы на треть уменьшали в ней содержание ионов калия, поэтому еще одним контролем служил раствор 10% Х-А, в котором KH_2PO_4 был заменен на NaH_2PO_4. Оказалось, что и на контрольных растворах, и при дефиците фосфора корни по массе практически не отличались. Но плотность боковых корней была ниже у растений на среде, не содержащей фосфатов. И хотя инициацию боковых корней чаще всего связывают с ауксинами, в наших опытах торможению роста боковых корней предшествовало накопление цитокининов (двукратное зеатина и четырехкратное рибозида зеатина) и увеличение содержания АБК. А некоторое снижение массы побега можно объяснить обнаруженным в них снижением содержания ИУК, что не противоречит данным литературы. Следует также отметить, что при тотальном дефиците питания было также обнаружено уменьшение числа боковых корней, которому предшествовали совершенно другие гормональные изменения (накопление АБК в побеге и снижение содержания цитокининов в растении). Объяснить это можно тем, что в этом случае мы наблюдали подавление роста корней, как на уровне накопления массы, так и на уровне развития боковых корней. В то время как при дефиците фосфора было обнаружено только нарушение образования боковых корней, обусловленное накоплением в корнях АБК и активных форм цитокининов. Таким образом, разнообразие ростовых ответов растений зависит от взаимодействия гормональных сигналов, формирующихся в ответ на изменение уровня элементов питания.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, грант №*15-04-04750.

ПРОДУКТИВНОСТЬ ЭМБРИОГЕННЫХ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ И ИХ СОМАКЛОНАЛЬНАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ У ЛИСТВЕННИЦЫ СИБИРСКОЙ И ЛИСТВЕННИЦЫ СУКАЧЕВА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *IN VITRO*

The production of embryogenic cell lines and their somaclonal variability of Siberian larch and Sukacheva larch during long-term cultivation *in vitro*

Третьякова И.Н., Пак М.Э., Иваницкая А.С.

ФГБУН Институт леса им. В. Н. Сукачева СО РАН, Красноярск, Россия; culture@ksc.krasn.ru

Проводили микроклональное размножение лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb) и лиственницы Сукачева (*L. sukaczewii* Djil.) на среде АИ через соматический эмбриогенез *in vitro* (патент № 2456344; http://www.freepatent.ru/images/patents/5/2456344/patent-2456344.pdf). В качестве эксплантов использовали незрелые зиготические зародыши от деревьев устойчивых к лиственничной почковой галлице. Получили четыре самовоспроизводящие пролиферируюшие эмбриогенные клеточные линии. (Кл) *Larix sibirica*, 11 Кл *L. sukaczewii* и одну гибридную линию *L. sibirica* x *L. sukaczewii*. Возраст культур от одного года до пяти лет Кл лиственницы отличались разной эмбриогенной продуктивностью, содержанием и размером соматических зародышей, способностью их вызревать и прорастать, а также образовывать жизнеспособные регенеранты. В молодых Кл (возраст до одного года) число глобулярных соматических зародышей в 1 г сырого эмбриогенного каллуса (ЭК) в среднем колебалось от 2040 до 7655, и у отдельных Кл (Кл 10) достигало 11103. При длительном культивировании (3-5 лет) продуктивность эмбриогенных Кл оставалась высокой (1894-3150 зародышей на 1 г ЭК). Размеры соматических зародышей в пролиферирующих Кл также значительно варьировали Наиболее мелкие зародыши были отмечены у гибридной Кл 5 (глобула 90,6 мкм, суспензор 126,4 мкм), наиболее крупные у Кл 6 (глобула 282 мкм, суспензор 1124 мкм). Цитогенетические исследования соматических зародышей в пролиферирующей эмбриогенной массе показали высокую митотическую активность культур. Митотический индекс составил. 5,6. Число хромосом в клетках оставалось диплоидным. Выделилась гибридная Кл 5, у которой формировались мелкие ядра и наблюдалась аглютинация хромосом.

При добавлении в питательную среду АИ абсцизовой кислоты (АБК) происходил морфогенез и вызревание соматических зародышей в течение 45 суток. Число вызревших соматических зародышей у разных Кл колебалось от 12 до 1221 шт на 1 г. ЭК. Мелкие соматические зародыши гибридной Кл5 вообще не вызревали на среде с АБК. Наблюдались разного рода нарушения в морфогенезе зародыша в процессе вызревания: отклонения в морфогенезе разных доменов зародыша и цитокинезу. Наименьшее число аномальных зародышей было отмечено у Кл4, у которой формировались в основном нормальные по фенотипу зародыши (83,3%).

Прорастание соматических зародышей происходило на безгормональной среде АИ и начиналось с растяжения гипокотиля и удлинения корешка. Наибольшее число полноценных регенерантов было отмечено у Кл4 (80,9%). Соматические сеянцы переносили в экопочву в условия ростовой камеры, а затем были высажены в теплицу Погорельского ОЭП, где сеянцы активно росли. Прирост двухлетних сеянцев за вегетационный период составил 10-20 см.

Таким образом, полученные эмбриогенные клеточные линии *Larix* характеризовались разной эмбриогенной продуктивностью: содержанием и размером соматических зародышей, способностью их вызревать и прорастать, а также образовать жизнеспособные регенеранты. Полученные Кл характеризовались генетической стабильностю.

Работа поддержана грантом РФФИ № 15-04-01427.

ПОИСК НОВЫХ ТЕСТ-СИСТЕМ ДЛЯ АНАЛИЗА БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ОЛИГОСАХАРИНОВ

Searching a new test systems for the analysis of biological activity of oligosaccharines

Трофимова О.И., Ларская И.А., Горшкова Т.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук, Казань, Республика Татарстан, Россия; trofoi@mail.ru

Растительная клеточная стенка – динамичная структура, в которой не только откладываются новые слои, но и постоянно идут процессы модификации уже существующих полисахаридов. Это приводит к формированию большого числа олигосахаридных фрагментов, из которых, по крайней мере, часть обладает физиологической активностью, запуская или ингибируя различные процессы. Эти биологически активные фрагменты, получившие название «олигосахарины», являются существенным компонентом разветвленных сетей сигнальных систем, которые присутствуют в растении. Огромное разнообразие фрагментов с потенциальной активностью требует наличие надежной тест-системы с высокой пропускной способностью.

Для исследования процесса корнеобразования нередко используют модельные системы (сегменты стеблей или листьев, тонкослойные экспланты и пр.), у которых при определенных условиях происходит изменение программы развития отдельных клеток, что приводит к появлению так называемых, адвентивных корней. Изучение данного процесса часто затруднено неудачным выбором объекта исследования и поиск адекватных модельных систем, подходящих для решения конкретных задач все еще продолжается. В нашей лаборатории, где проводится поиск биологически активных фрагментов полисахаридов клеточной стенки, стимулирующих процесс корнеобразования, это является актуальной проблемой. Поэтому целью данного исследования являлся поиск модельной системы с хорошей корнеобразующей способностью при минимальном количестве экзогенно добавляемых гормонов.

Мы сравнили процесс корнеобразования на различных эксплантах: гипокотили гречихи, табака, льна, сегменты корней и эпикотили кукурузы, листовые экспланты трансгенного табака (*rolB-GUS*) табака. Были подобраны оптимальные условия культивирования, изучено действие различных гормонов и найдены их эффективные концентрации. Из всех образцов гипокотили льна оказались наименее подходящим объектом. Они плохо образовывали корни при всех моделируемых условиях. Все остальные модельные системы хорошо реагировали на гормон и олигосахарин, но имели свои недостатки. Сегменты корней кукурузы, в отличие от других объектов, формируют латеральные корней и могут быть полезны в сравнительном анализе механизма формирования адвентивных и латеральных корней при действии олигосахаринов. Однако большие размеры этих эксплантов препятствуют их исключительному использованию в связи с необходимостью минимизировать количество тестируемых фракций. Тест-система с сегментами гипокотилей гречихи очень проста в применении и позволяет достаточно быстро провести скрининг различных эффекторов, однако ее использование так же ограничено, поскольку геном гречихи недостаточно охарактеризован. Эксперименты, проведенные с эксплантами из листьев трансгенного табака, позволили наблюдать не только конечный результат по подсчету корней, но и оценить ранние ИУК-индуцируемые события по GUS-активности еще до появления первых видимых корней, однако недостатком данной системы является более длительное по времени получение результатов. Удобной модельной системой оказались сегменты гипокотилей трансгенного табака, на которых можно вести подсчет корней, оценивать GUS-активность и проводить гистохимические исследования.

Следует отметить, что не было выявлено уникальной тест-системы, которая удовлетворяла бы всем необходимым требованиям. Таким образом, в дальнейшей работе по тестированию биологической активности олигосахаринов и их характеристике в зависимости от поставленной задачи будут использоваться различные модельные системы. Поиск новых тест-систем для изучения корнеобразования при контролируемых условиях и влияния на этот процесс различных факторов продолжается.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ (грант 14-04-01591).

ОСОБЕННОСТИ ОБУЧЕНИЯ ФИЗИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ СТУДЕНТОВ НАПРАВЛЕНИЯ «ПЕДАГОГИЧЕСКОЕ ОБРАЗОВАНИЕ» В КОНТЕКСТЕ ТРЕБОВАНИЙ ФГОС ОСНОВНОГО ОБЩЕГО ОБРАЗОВАНИЯ

On the teaching plant physiology to students studying pedagogics in the context of the requirements of the new standard of basic general education

Трофимова С.А.

ФГБОУ ВПО «Петрозаводский государственный университет», Петрозаводск, Россия
trofimova.sa@mail.ru

Рабочие программы и учебные планы академической дисциплины «Физиология растений» в вузах обычно составляют в соответствии с федеральным государственным образовательным стандартом высшего профессионального образования. Что касается, студентов, обучающихся по направлению «Педагогическое образование» с профилем Биология, то, по нашему мнению, при составлении учебно-методического комплекса дисциплины, основу которого составляют рабочая программа и учебный план, должны быть учтены также и требования федерального государственного стандарта основного общего образования. Это связано с тем, что студенты-будущие учителя биологии, завершив обучение, приступят к самостоятельной работе в школе и будут использовать в своей педагогической деятельности не только полученные в вузе знания, но и приобретенные умения и навыки как исследовательской и экспериментальной работы, так и организации учебной деятельности.

Следует отметить, что учебный предмет «Физиология растений» рассчитан на формирование у студентов представлений об особенностях строения и жизнедеятельности растительного организма, о влиянии на них условий среды, нацелен на осознание студентами роли растений в глобальных круговоротах веществ и энергии, обеспечении населения пищей, сырьем для многих видов промышленности и биотехнологий. В курсе традиционно представлены такие разделы, как физиология растительной клетки, водный режим растений, минеральное (почвенное) питание растений, углеродное (воздушное) питание растений (фотосинтез), дыхание растений, рост и развитие растений, физиология устойчивости растений. Учебные занятия включают блок лекций, блок лабораторных работ и полевую или учебную практику.

Система знаний о живых организмах, сформированная при обучении в вузе, служит необходимой основой для профессиональной деятельности учителя биологии, позволяет ему грамотно и квалифицированно выстраивать учебный процесс. В связи с этим, в случае физиологии растений, важно знакомить студентов не только с процессами жизнедеятельности растений, но и с методологическими аспектами их изучения, с передовым научным опытом отечественных и зарубежных ученых, с практическим применением знаний.

В федеральном государственном стандарте основного общего образования особое внимание уделено формированию у обучающихся основ культуры исследовательской и проектной деятельности, включающей навыки разработки, реализации и общественной презентации результатов исследования, предметного или межпредметного учебного проекта, имеющего социальную или личностную направленность. В целях повышения качества образования будущих учителей следует, по нашему мнению, обучать студентов основам проектной деятельности через выполнение индивидуальных заданий в рамках самостоятельной подготовки по предмету, а также включать элементы проектной деятельности в курсовые и дипломные работы. Результатом проекта может быть атлас, видеофильм, диафильм, газета, журнал, коллекция, гербарий, макет, модель, наглядные пособия, плакат, публикация, справочник, словарь, экологическая программа, книга, викторина, план, реферат, серия иллюстраций, стенгазета, буклет, поделка, сценарий праздника, экскурсия, путешествие, реклама, выставка, инсценировка, спектакль, соревнования, телепередача, научная конференция, ролевая, деловая или интеллектуально - творческая игра. С учетом специфики физиологии растений это может быть работа, в основе которой лежит изучение жизнедеятельности растений. Так, например, нами в рамках учебного курса «Экологическая физиология растений» было предложено студентам написать сказки о растениях и о влиянии на них условий среды. Предварительно были рассмотрены особенности жанра и правила написания сказки. Обязательным условием было использование учебного материала при написании сказки. Все написанные студентами произведения были прочитаны на занятии.

Важное место в федеральном государственном стандарте основного общего образования отведено внеурочной деятельности школьников, реализуемой через кружки, клубы и секции, научно-практические конференции, школьные научные общества, олимпиады, поисковые и научные исследования, общественно полезные практики и т.д. Желательно, чтобы в процессе обучения в вузе студенты приобщились к подобным формам деятельности, элементы осуществления которой могут быть включены в лабораторный курс, учебную или полевую практику по физиологии растений. В качестве примера можно привести занятие со студентами по решению заданий всероссийских олимпиад по биологии для школьников (задания прошлых лет представлены на сайте олимпиады). Практические задания олимпиад требуют планирования и проведения экспериментов и представления результатов в виде самостоятельно составленных таблиц, графиков или диаграмм.

В заключение следует подчеркнуть, что при обучении студентов не только специальным, но и академическим дисциплинам, должна быть учтена специфика их будущей профессиональной деятельности.

ПИГМЕНТНЫЙ КОМПЛЕКС *PICEA OBOVATA* LEDEB. В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УСЛОВИЙ ПРОИЗРАСТАНИЯ

The pigmental complex of *Picea obovata* Ledeb. depending on the growth condition

Тужилкина В.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Коми научного центра Российской академии наук, Сыктывкар, Россия; tuzhilkina@ib.komisc.ru

Хвойные составляют две трети площади лесов нашей страны. Им принадлежит ведущая роль в формировании лесных биоценозов в северном полушарии. Лесные экосистемы из ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.) функционируют в широком диапазоне условий их существования. В природных условиях они испытывают значительное влияние экологических факторов. Состояние органов и растения в целом обеспечивается многообразными адаптационными механизмами, существующими на всех уровнях организации биологических систем.

Исследовали пигментный комплекс ели сибирской (*Picea obovata*) – основной лесообразующей породы европейского Северо-Востока России, произрастающей в разных типах леса и в условиях техногенной нагрузки разной степени загрязнения выбросами крупного целлюлозно-бумажного производства в подзоне средней тайги.

Изучение сезонной динамики содержания хлорофиллов и каротиноидов в хвое *Picea obovata*, произрастающей в суровых условиях Севера, необходимо для понимания роли пигментов в устойчивости ассимиляционного аппарата. Нами установлено, что в наиболее распространенных типах коренных еловых древостоев, пул зеленых пигментов в хвое *Picea obovata* достигал своего большого размера (1,80 мг/г сухой массы) в начале осени – концу периода активной вегетации, каротиноидов (0,44 мг/г сухой массы) – зимой. Повышенная концентрация пигментов и высокая прочностью связи хлорофилла с белковым комплексом в осенний период являются приспособительным признаком, который наряду с другими свойствами обеспечивает устойчивость фотосинтетического аппарата в зимний период. Зимой концентрация хлорофиллов снижалась на 35-40%, что свидетельствует о заторможенности синтеза пигментов. Не обнаружено существенных различий по сезонам года в соотношении хлорофиллов *a* и *b*. Выявлены особенности в содержании зеленых пигментов у *Picea obovata* в зависимости от условий произрастания. В чернично-сфагновом и долгомошно-сфагновом еловых фитоценозах на переувлажненной болотно-подзолистой почве содержание хлорофилла в хвое *Picea obovata* в отдельные влажные периоды вегетации было на 12-22% ниже, чем в хвое ельника черничного, развитого на автоморфных почвах. Переувлажнение почвы, наблюдаемое весной, а иногда и летом в заболоченных еловых насаждениях, подавляет процесс образования хлорофиллов в хвое, что возможно, отрицательно влияет на фотовосстановление CO_2 в хлоропластах и способствует снижению фотосинтеза и, в конечном итоге продуктивности *Picea obovata*.

Установлена линейная зависимость содержания зеленых пигментов от температуры почвы в годичном цикле, что свидетельствует о влиянии температуры корнеобитаемого слоя почвы на хлорофиллобразование в фотосинтетическом аппарате.

Фонд желтых пигментов в хвое *Picea obovata* подвержен меньшим колебаниям в течение вегетации. Зимой отмечалось увеличение относительного содержания каротиноидов, выполняющих защитную роль фотосинтетического аппарата от повреждения низкими температурами. Характер сезонной динамики каротиноидов в отличие от хлорофиллов у *Picea obovata* в черничных и заболоченных фитоценозах средней тайги идентичен.

В ельниках черничных, расположенных в районе действия крупного целлюлозно-бумажного комбината, влияние загрязнения среды сернистыми и азотистыми соединениями на состояние хвои ели проявлялось в зависимости от техногенной нагрузки. Установлено, что интенсивные и длительные воздействия промышленных выбросов комбината стимулируют процесс образования зеленых пигментов, особенно хлорофилла b, что приводило к увеличению пула светособирающего комплекса, который влияет на образование гран в хлоропластах и способствует лучшему развитию светопоглощающей системы. При ослаблении загрязнения пигментный аппарат ели не претерпевал изменений. Итак, поллютанты приводят к усилению синтеза хлорофиллов в пластидах, вызывают определенные перестройки в пигментном комплексе мезофилла, которые свидетельствуют о компенсаторном механизме адаптации пигментной системы, направленной на сохранение стабильного уровня фотосинтетической активности ели и способствуют ее устойчивости к условиям загрязнения в районе действия производства.

Сделан вывод, что исследования пигментного комплекса фотосинтетического аппарата древесных растений является важным звеном при системном анализе состояния древостоев в природных условиях и при воздействии антропогенных факторов.

НОВЫЙ ПОДХОД К УВЕЛИЧЕНИЮ СТАБИЛЬНОСТИ ЦЕЛЕВЫХ БЕЛКОВ ПРИ ГЕТЕРОЛОГИЧНОЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТКАХ

New approach to increase of target protein stability under heterological gene expression in plant cells

Тюрин А.А.[1,2], Бердичевец И.Н.[1], Герасименко И.М.[3], Гра О.А.[1], Шелудько Ю.В.[3], Голденкова-Павлова И.В.[1,2]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия; irengold58@gmail.com*

[2] *Российский государственный аграрный университет - МСХА им. К.А. Тимирязева, Москва, Россия alexjofar@gmail.com*

[3] *Институт клеточной биологии и генетической инженерии Национальной академии наук Украины, Киев, Украина; ysheludko@ukr.net*

В настоящее время предложено ряд подходов к увеличению стабильности гетерологичного белка в растительной клетке. Среди которых: ткане-специфичная экспрессия гетерологичного гена в запасающих органах растений, специфическая компартментализация целевых белков в растительной клетке, коэкспрессия с генами, кодирующими ингибиторы протеаз, и использование белок-стабилизирующих партнеров.

В рамках представленного исследования мы рассмотрим в качестве нового и перспективного белок-стабилизирующего партнера термостабильную лихеназу из *Clostridium thermocellum*.

Наши исследования показали, что этот фермент характеризуется не только высокой термостабильностью, но и устойчивостью к действию различных протеолитических ферментов. Помимо этого, *in silico* анализ 3D структуры термостабильной лихеназы позволил выявить области, которые позволят интеграцию в аминокислотные последовательности, кодирующих небольшие пептиды и белки, без значительного влияния как на функционирование лихеназы, так и интегрируемого полипептида. Все это делает данный фермент перспективным кандидатом на роль белок-стабилизирующего партнера для широкого спектра полипептидов.

Для оценки перспективности использования термостабильной лихеназы в качестве белок-стабилизирующего пратнера был сконструирован ряд экспрессионных векторов, содержащих различные варианты слияния лихеназы и модельных белков: интеграция в области 53-го и 99-го аминокислотных остатков, N- и С-концевое слияние. В качестве модельных белков были использованы зеленый флуоресцентный белок, эритропоэтин и интерферон-α-2А. Экспрессия гибридных генов в бактериальной системе позволила сделать заключение, что лихеназа сохраняет термостабильность и активность при интеграции модельных белков.

Для экспрессии гибридных генов в растительных системах использовали вектор серии pVIG-T, в котором экспрессия целевых генов контролируется промотором 35S РНК вируса мозаики цветной капусты. Для тестирования полученных конструкций использовали метод транзиентной экспрессии в растениях *N.bentamiana*.

Полученный в результате экспрессии гибридных генов суммарный растворимый белок анализировали методами: чашечного теста (качественная проверка на наличие лихеназной активности), электрофореза в денатурирующих условиях, зимограмм (необходима для ассоциирования лихеназной активности с белковым продуктом определенного размера), количественного определения целевого белка по активности лихеназы, а также определение функциональной активности целевых белков (интерферона и эритропоэтина) в культуре клеток млекопитающих. В ходе экспериментальной проверки выдвинутой гипотезы об эффективности термостабильной лихеназы в роли белок-стабилизирующего партнера было показано сохранение термостабильности и специфической лихеназной активности гибридными белками, продемонстрирован более высокий выход рекомбинантного белка при экспрессии в модельных растениях в случае слияния его с термостабильной лихеназой, что является следствием увеличения стабильности гибридного белка в растительной клетке.

ТОНКАЯ НАСТРОЙКА ЭКСПРЕССИИ ГЕТЕРОЛОГИЧНЫХ ГЕНОВ В РАСТЕНИЯХ ЗА СЧЕТ РЕГУЛЯЦИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТРАНСЛЯЦИИ мРНК И СТАБИЛЬНОСТИ БЕЛКОВОГО ПРОДУКТА

Fine adjustment of heterological gene expression in plants due to due to the regulation of the efficiency translation and protein stabilization

Тюрин А.А.[1,2], Мустафаев О.[1], Кабардаева К.В.[2], Кимиссе М.[1], Садовская Н.С.[1], Голденкова-Павлова И.В.[1]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, irengold58@gmail.com*

[2] *Российский государственный аграрный университет - МСХА им. К.А. Тимирязева, Москва, Россия alexjofar@gmail.com*

Создание экспериментальных моделей трансгенных растений для функциональной геномики, как и успех в создании новых форм растений с заданными свойствами или использовании их в качестве продуцентов, зависят от эффективности работы перенесенных генов. Эффективность экспрессии генов регулируется на разных уровнях: транскрипции, трансляции, и стабильности белкового продукта переносимого гена. Несмотря на бурное развитие генной инженерии растений доступных и охарактеризованных растительных регуляторных элементов невелико, поэтому поиск регуляторных элементов, а также генетических детерминант, важных для оптимальной экспрессии переносимого гена в растениях является актуальным направлением исследований.

Нами предложен новый подход для конструирования экспериментальных моделей с целью дальнейшего создания трансгенных растений, как для фундаментальных исследований, так и перспективных для биотехнологии. Этот подход основан на поиске, *in silico* анализе, конструировании и тестировании генетических детерминант, которые обуславливали бы не только эффективную, но и оптимальную экспрессию целевых генов в растениях, а также стабильность их белковых продуктов. Для поиска и анализа генетических детерминант, важных для оптимальной экспрессии переносимого гена в растениях, нами создана база данных FlowGene, которая имеет программное обеспечение, позволяющее формировать произвольные выборки нуклеотидных последовательностей генов с целью их дальнейшего анализа по различным параметрам.

Экспериментальная верификация функциональной значимости генетических детерминант, потенциально влияющих на трансляционную активность мРНК гетерологичных генов и стабильность их белковых продуктов, показала, что размер и нуклеотидный состав 5'-нетранслируемой области мРНК, окружение инициирующего кодона, а также кодоновый состав гетерологичного гена вносят значимый вклад в оптимизацию уровня экспрессии гетерологичных генов в растениях.

Предложенный подход был успешно апробирован в растительных системах с использованием репортерных и целевых генов.

Полученные результаты продемонстрировали, что тонкая настройка экспрессии гетерологичных генов позволяет разработать оптимальные системы их экспрессии в растениях и создать оптимальные экспериментальные модели трансгенных растений, перспективные для фундаментальных исследований и биотехнологии.

УНИКАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ЛИШЕННОГО ХЛОРОФИЛЛА *B* МУТАНТА ЯЧМЕНЯ *CHLORINA* 3613 С ВЫСОКИМ УРОВНЕМ ФОТОСИНТЕЗА И ПРОДУКТИВНОСТИ

Unique organization of photosynthetic apparatus in the highly productive phenotype of the *chlorina* 3613 barley mutant lacking chlorophyll *b*

Тютерева Е.В.[1], Brenner W.G.[2], Иванова А.Н.[1], Дмитриева В.А.[1], Pawlowski K.[3], Войцеховская О.В.[1]

[1] Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург, Россия; tuterlena@mail.ru
[2] Freie Universitaet Berlin, Berlin, Germany; [3] Stockholm University, Stockholm, Sweden

Состав, архитектура и адаптивная реорганизация тилакоидной мембраны являются основой фотосинтетической продуктивности растений. Мутации, ведущие к утрате функций любого из компонентов пигмент-белковых комплексов, как правило, вызывают нарушения миграции энергии в комплексах антенны и фотосистем, дестабилизацию работы цепи переноса электронов и в результате значительное снижение эффективности фотосинтетической функции хлоропласта. Нарушения в каталитическом домене фермента хлорофиллид-оксигеназы (CAO) высших растений приводят к полному отсутствию хлорофилла *b* в антенных комплексах обеих фотосистем. Это дестабилизирует светособирающую антенну (ССК), в первую очередь, за счет протеолитической деградации белков Lhcb1-2 и нарушения их тримеризации с образованием ССК2 (Bossmann et al., 1997; Bossmann et al., 1999). Мутанты пшеницы, арабидопсиса и ячменя с неактивной CAO отличаются замедленным ростом, низким уровнем фотозащиты и фотосинтеза, что морфологически выражается их меньшими размерами, низкой энергией кущения и урожая (Brestic et al., 2008; Pfündel et al., 2008; Mishra et al., 2012; Ramel et al., 2013).

Ранее нами впервые была показано, что один из серии аллельных по локусу f2 мутантов ячменя - *chlorina* 3613 (*clo-f2*^{3613}), экспрессирующий CAO с дефектом каталитического домена (Mueller et al., 2012) - в постювенильном периоде онтогенеза способен восстанавливать фотосинтетическую и семенную продуктивность до уровня дикого типа. Факторами среды, индуцирующими восстановление фотосинтетической функции у данного мутанта, оказались снижение освещенности и оптимизация водного режима на этапах флоральной трансформации меристем, закладки и раннего развития колосовых структур (Тютерева с соавт., 2011, 2014).

У мутантных растений с восстановленной продуктивностью фотосинтеза были выявлены необычные изменения соотношения белков малой и большой периферической антенн: частичное восстановление белков периферической антенны и при этом сильное увеличение содержания белков малой антенны. Количественное соотношение нативных комплексов фотосистем в тилакоидных мембранах мутанта показало накопление ФС2 на фоне сохранения содержания ФС1 и отсутствия тримеров ССК2. ТЭМ ультратонких срезов хлоропластов выявила ряд адаптивных изменений в архитектуре тилакоидной системы. Структурные изменения коррелировали с оптимизацией функциональных показателей фотосинтезирующих тканей – снижением продукции синглетного кислорода в листьях на свету до уровня дикого типа, интенсификацией CO_2 газообмена и способности к рассеиванию избытка энергии света по механизму нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла. Таким образом, последствия инактивации CAO могут быть компенсированы за счет уникального сочетания структурных элементов тилакоидной мембраны, позволяющего растению достигать продуктивности дикого типа.

Примечательно, что восстановление фотосинтетической продуктивности мутантов сопровождалось восстановлением онтогенетической регуляции: восстанавливался переход растений к цветению, а длительность периода между переходом к цветению и началом старения у таких растений совпадала с диким типом. Таким образом, компенсаторные изменения, приводящие к восстановлению уровня фотосинтеза у высокопродуктивного фенотипа лишенного хлорофилла *b* мутанта *chlorina* 3613, сопровождались восстановлением по крайней мере двух аспектов регуляции онтогенеза. Данные транскриптомного анализа указывают на возможное участие компонентов сразу нескольких сигнальных путей в этом процессе.

Исследование организации фотосинтетического аппарата растений ячменя (мутантов и дикого типа) поддержано РНФ (№14-16-00120). Использовалось оборудование ЦКП БИН РАН, и Ресурсного центра «Развитие молекулярных и клеточных технологий» СПбГУ. Исследования морфологических изменений выполнены в рамках госзадания №01201255613.

ПОКАЗАТЕЛИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА В ЛИСТЬЯХ КУКУРУЗЫ В УСЛОВИЯХ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОГО СТРЕССА

Indexes of the chlorophyll fluorescence in leaves of corn under low temperature stress

Тютяев Е.В.[1], Колмыкова Т.С.[1], Лукаткин А.С.[1], Максимов Г.В.[2]

[1] *ФГБОУ ВПО Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, Саранск, Россия*
tyutyaev.eugeny@yandex.ru, tskolmykova@yandex.ru
[2] *Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия; gmaksimov@mail.ru*

Методом PAM (Pulse Amplitude Modulated) флуориметрии были исследованы образцы листьев кукурузы сорта Кубанский 141 МВ при кратковременном действии низкой температуры. Растения выращивали на питательной среде Хогланда-Арнона методом рулонной культуры при температуре 24-25°С, влажности воздуха 84%. На 9-ый день после начала опыта растения из опытного варианта помещали в темную камеру, заполненную снегом (температура 0°С) на 30 мин. После указанной экспозиции растения извлекали из снежной смеси и регистрировали кинетику развития квантовых выходов флуоресценции хлорофилла (ФХ) на Junior PAM флуориметре (Walz, Germany) при плотности потока фотонов измерительного света 90 мкмоль квантов×$м^2$×$с^{-1}$ (λ=450 нм, 5 Гц), насыщающей вспышки 1500 мкмоль квантов/($м^2$×с) (λ=450 нм) и действующего света 285 мкмоль квантов/($м^2$×с) (λ=450 нм, 5 Гц). Физиологически значимые данные получали на основе таких кинетических параметров как: фоновая (F_0) и максимальная флуоресценция образцов адаптированных к темноте (F_m) и к действующему свету ($F`_0$), ($F`_m$) соответственно, а также стационарная флуоресценция (F_s). Сравнения проводили с растениями, не подвергшихся действию стрессовых температур.

У молодых растений кукурузы, подвергнутых действию гипотермии, зарегистрировали возрастание интенсивности квантового выхода pH-зависимого нефотохимического тушения ФХ в сравнении с растениями контрольной группы, что проявилось в виде снижения $F`_m$. В результате чего происходило быстрое формирование центров тушения ФХ в фотосинтетической антенне. Возможно, это связано с тем, что при воздействии низких температур быстрее активируется цикл ксантофилла в листьях кукурузы. Обсуждается состояние каротиноидов в фотосинтетической мембране, связанных с белком и свободных каротиноидов при воздействии низких температур.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки России (проект № 6.783.2014К), и программы У.М.Н.И.К № 3069ГУ1/2014.

НАДМОЛЕКУЛЯРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ И АКТИВНОСТЬ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ МИТОХОНДРИЙ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА В УСЛОВИЯХ ЗАКАЛИВАНИЯ И НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОГО СТРЕССА

Supramolecular organization and activity of pea seedlings mitochondria respiratory chain under cold hardening and low temperature stress

Уколова И. В., Кондакова М. А., Боровский Г.Б., Войников В. К.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия; irina@sifibr.irk.ru

Накопленная за последние годы информация о структурной организации электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) митохондрий позволяет предположить, что дыхательные комплексы организованы в сложные динамичные структуры, так называемые суперкомплексы (SC) и мегакомплексы. Наряду с этими ассоциациями в ЭТЦ митохондрий присутствуют также отдельно расположенные комплексы. В настоящее время активно изучается организация и состав суперкомплексов дыхательной цепи в различных видах и даже на разных фазах развития растений, но есть пока единичные исследования по влиянию факторов среды на их состав и активность. Кроме того, основной вопрос о функциональной роли SC пока остается открытым и неизученным. На наш взгляд использование закаливающих и стрессовых низких температур для изучения связи изменений в функциональном состоянии митохондрий с изменениями в надмолекулярной организации ЭТЦ может помочь ответить на вопрос о функциональной значимости SC и выявить возможную причину существования этих структур во внутренней мембране митохондрий.

Объектом исследования являлись этиолированные проростки гороха (*Pisum sativum* L, сорт Аксайский усатый 55). В ходе работы при помощи одномерного и двумерного голубого нативного форезов (1D BN-PAGE, 2D BN/BN-PAGE, 2D BN/SDS), энзимографии и иммунохимии была изучена надмолекулярная организация электрон-транспортной цепи митохондрий гороха. Установлено, что дыхательная цепь этих органелл представлена мажорным суперкомплексом I + III_2; четырьмя респирасомами, состоящими из разного количества копий I, III_2 и IV; а также одним мегакомплексом, включающим в себя комплексы II, III_2 и IV дыхательной цепи. Показано, что лишь 10% I-го комплекса свободно располагается во внутренней мембране митохондрий гороха, остальные 90% сосредоточены в суперкомплексах ЭТЦ. В отличие от I-го комплекса основная часть II-го и IV-го комплексов ЭТЦ, по-видимому, присутствует в виде отдельно расположенных комплексов.

Изучение изменений в надмолекулярной организации дыхательной цепи растительных митохондрий в условиях закаливания (7°С, 7 сут), жесткого (-7°С, 1,5 часа) и мягкого (2°С, 7 сут) низкотемпературных стрессов обнаружило связь этих изменений с функциональным состоянием митохондрий и общим физиологическим состоянием проростков гороха. Показано, что снижение активности и содержания I-го комплекса в составе суперкомплексов в период холодового закаливания приводит к уменьшению скоростей дыхания на субстрате I-го комплекса, сопровождается активацией АОХ и внутренних альтернативных НАД(Ф)Н-дегидрогеназ. Повреждающие воздействия низкой температуры приводят к развитию окислительного стресса и диссоциации I-го комплекса из состава SC. Причем его накопление в виде индивидуального комплекса зависит от тяжести стрессовой нагрузки, - под действием низкой отрицательной температуры происходит самое активное его увеличение (почти в 2 раза) по сравнению с контролем. Высвобождение I-го комплекса, работа которого в свободном состоянии не ограничивается активностью других компонентов SC, сопровождается увеличением или сохранением скоростей дыхания на субстратах I-го комплекса в стрессовых условиях и активацией внутренних альтернативных НАД(Ф)Н-дегидрогеназ, но не АОХ.

Отмечено также небольшое увеличение активности и содержания II-го и IV-го комплексов в составе мегакомплекса при холодовом закаливании и мягком стрессе. При жестком стрессе, наоборот, происходит снижение содержания и, вероятно, распад мегакомплекса и суперкомплексов, и значительное повышение активности внешних НАД(Ф)Н-дегидрогеназ, что свидетельствует о возрастающей роли этих ферментов в условиях серьезного повреждающего стресса. В целом полученные данные говорят о стабильной надмолекулярной организации дыхательной цепи митохондрий проростков гороха, реагирующей понижением или повышением активности и содержания отдельных ее компонентов на снижение температуры, диссоциацией I-го комплекса из состава SC-ов в ответ на индуцируемый гипотермией окислительный стресс, и активацией альтернативных ферментов, зависящей от степени холодовой нагрузки.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (грант № 14-04-01233 а).

ВЛИЯНИЕ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ЭРИТРОМИЦИНОМ ПЛАСТИД НА СИНТЕЗ β-ГЛИКОЗИДАЗ ПОДСОЛНЕЧНИКА

Influence of erythromycin modified plastids on the synthesis of β-glycosidases in sunflower

Усатов А.В., Колоколова Н.С., Усатов Н.А.

Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия; usatova@mail.ru

Несмотря на очевидную значимость пластидно-ядерных взаимоотношений в функционировании растительных клеток, многие аспекты этой проблемы изучены пока не достаточно. Удобными маркерами функциональной активности структурных генов являются ферменты. Поскольку глюкоза и галактоза являются основными моносахарами большинства гликозидов, олиго- и полисахаридов, такие ферменты как β-глюкозидаза и β-галактозидаза занимают особое место среди гликозидаз и локализованы практически во всех органах и тканях различных видов растений. Для исследования влияния функционального статуса пластид на экспрессию ядерных генов, кодирующих β-галактозидазу и β-глюкозидазу, в качестве агента, блокирующего биосинтез белка на 70 S рибосомах в хлоропластах листьев подсолнечника использовали эритромицин.

Семена инбредной линии 3629 проращивали в стерильных условиях на агаре с добавлением эритромицина в концентрации 10^{-4} М. У проростков на стадии 2-3 пары настоящих листьев наблюдали снижение содержания хлорофиллов и нарушение внутренней структуры хлоропластов по сравнению с контрольными растениями. Антибиотик подавлял развитие тиллакоидной системы. Отдельные немногочисленные мембранные образования формировались в виде укороченных протилакоидов. Уменьшение электронного матрикса органелл, местами почти до полной электронной прозрачности, свидетельствует о значительном снижении числа рибосом. При этом активности водорастворимых β-галактозидазы (β-Д-галактозид-галактогидролаза, КФ 3.2.1.23) и β-глюкозидазы (β-Д-глюкозид-глюкогидролаза, КФ 3.2.1.21) возрастали на 73% и 40%, соответственно, относительно контроля. Для подтверждения связи между увеличением активностей ферментов и уровнем синтеза их молекул проростки срезали и помещали в сосуды с питательной средой, содержащей набор аминокислот, меченных по C^{14}. Через 16 ч экспозиции проростков проводили гель-фильтрацию водорастворимых белков на Акрилексе А-150 с дальнейшим определением интенсивности включения радиоактивной метки в отдельных белковых фракциях. Во фракции, содержащей оба исследуемых фермента активность β-галактозидазы и β-глюкозидазы возрастала на 45% и 32%, соответственно, относительно контроля. Интенсивность включения метки в данной фракции также была в несколько раз выше, чем в контроле.

Таким образом, в ответ на блокирование синтеза белка на 70 S рибосомах пластид, происходит увеличение синтеза гидролитических ферментов и в частности β-гликозидаз, контролируемых ядерными генами и транслируемых на цитоплазматических рибосомах 80 S. Биологический смысл такого увеличения, по-видимому, состоит в поддержании в клетках необходимого для жизнедеятельности растений пула сахаров за счет реутилизации высокомолекулярных молекул углеводов.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ, проект № 40.91.2014/К.

ТЕРМОУСТОЙЧИВОСТЬ ЦЕНОЗОВ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ ИСКУССТВЕННЫХ ЭКОСИСТЕМ К ВОЗДЕЙСТВИЮ ПОВРЕЖДАЮЩИМИ ТЕМПЕРАТУРАМИ ВОЗДУХА

Heat tolerance of higher plants cenosis of artificial ecosystems to damaging air temperatures

Ушакова С.А., Шклавцова Е.С.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биофизики Сибирского отделения Российской академии наук, Академгородок, Красноярск, Россия; sofya-ushakova@yandex.ru

При проектировании длительно действующих искусственных замкнутых по массообмену экологических систем (ЗЭС) с человеком в качестве звена-задатчика, важно предусмотреть реакцию многовидового ценоза высших растений на действие того или иного стресс-фактора. Одним из таких факторов может быть повышение температуры воздуха в ЗЭС до значений, приводящих к необратимым нарушениям фотосинтетических процессов. Целью данной работы является изучение устойчивости ценозов растений, основных предполагаемых представителей растительного звена ЗЭС, к действию температуры воздуха 45˚С в зависимости от условий выращивания и интенсивности ФАР во время действия стресс-фактора.

В работе проводится сравнение устойчивости к действию температуры воздуха 45˚С ценозов пшеницы, чуфы и салатных культур в зависимости от условий минерального питания и интенсивности ФАР во время теплового шока (ТШ). Длительный опыт работы с ценозами растений яровой пшеницы (линия 232, выведена Г.М. Лисовским специально для ЗЭС), редиса (сорт «Вировский белый»), салата (сорт «Московский тепличный) и чуфы, выращенных в условиях БТСЖО Института биофизики СО РАН в стандартных условиях методом гидропоники на керамзите с использованием минеральной среды Кнопа, показал, что оптимальная температура воздуха для ценозов пшеницы, редиса и салата составляет 23-25˚С, для ценозов чуфы - 25-28˚С. Эксперименты по оценке термоустойчивости ценозов показали, что воздействие температуры воздуха 45˚С длительностью 7 ч на ценозы пшеницы и редиса, выращенных на среде Кнопа при интенсивности ФАР 690 мкмоль/(м^2×с), приводило к необратимому снижению фотосинтетических процессов, в то время как снижение интенсивности видимого фотосинтеза ценозов чуфы во время 20 ч ТШ носило обратимый характер. Повышение интенсивности ФАР во время действия повреждающей температуры воздуха до 1150 мкмоль/(м^2×с) на ценозы пшеницы и редиса увеличивало термоустойчивость растений, но защитная функция повышенной интенсивности ФАР была ограничена 5 ч интервалом, за пределами которого наступал, видимо, перегрев листьев, что приводило к нарушениям как фотосинтетических, так и окислительных процессов. У ценоза чуфы на протяжении всего 20 ч ТШ при интенсивности ФАР 1150 мкмоль/(м^2×с) интенсивность видимого фотосинтеза была в 2,5 раза выше интенсивности видимого фотосинтеза до ТШ при интенсивности ФАР 690 мкмоль/(м^2×с).

Использование жидких продуктов минерализации экзометаболитов человека в качестве основы для приготовления питательных растворов для выращивания растений позволяет повысить степень замыкания массообменных процессов в ЗЭС. Но термоустойчивость одновозрастных ценозов пшеницы и чуфы, выращенных на таких растворах, оказалась ниже термоустойчивости ценозов, выращенных на среде Кнопа. Возможно, причина снижения устойчивости связана с формой азотного питания, так как термоустойчивость ценозов чуфы, выращенных на растворах, приготовленных на основе жидких продуктов минерализации экзометаболитов человека, но с заменой аммонийной и амидной форм азота на нитратную форму, была близка к термоустойчивости растений, выращенных на среде Кнопа.

Таким образом, поскольку ценозы растений чуфы обладают гораздо большей термоустойчивостью по сравнению с ценозами растений пшеницы и редиса, выращенными в аналогичных условиях, то включение ценозов чуфы в состав растительного звена ЗЭС позволит увеличить в целом термоустойчивость растительного звена и обеспечит в определенных пределах нормализацию газового состава воздушной среды при повышении температуры воздуха в ЗЭС до 45˚С. Включение жидких продуктов минерализации экзометаболитов человека в массообменные процессы не приведет к значимому снижению термоустойчивости растительных ценозов в случае замены восстановленных форм азота на нитратные формы.

ГЕН ВЕРНАЛИЗАЦИИ *FRIGIDA* И ЕГО ЭВОЛЮЦИЯ В СЕМЕЙСТВЕ *BRASSICACEAE*

Gene of vernalization *FRIGIDA* and its evolution in the *Brassicaceae* family

Фадина О.А., Хавкин Э.Е.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия; fadinaokcaha@gmail.com

Ранее мы предложили двухлокусную модель гена цветения *FRIGIDA*, основанную на изучении геномов *Brassica* AA (*B. rapa*), CC (*B. oleracea*) и AACC (*B. napus*). В геномах A и C локусы *FRI.a* и *FRI.b* локализованы на разных хромосомах. Оба локуса транскрибируются, однако участие в репрессии перехода к цветению доказано только для локуса *FRI.a*.

Для *B. nigra* (геном B) аналогичные данные отсутствовали. Поэтому мы клонировали ген *FRIGIDA* у диплоида *B. nigra* (BB) и тетраплоидов *B. carinata* (BBCC) и *B. juncea* (AABB). У всех шести *Brassica*, образующих треугольник U, ген *FRIGIDA* представлен двумя локусами. Исследование *FRIGIDA* у наиболее близких к *B. nigra* видов *Sinapis arvensis* и *Raphanus sativus* обнаружило отчетливый диморфизм, который позволяет предположить, что ген *FRIGIDA* в этих геномах также представлен двумя локусами.

В контексте хорошо исследованной эволюции геномов Brassicaceae интересно рассмотреть возможные пути возникновения двух локусов *FRIGIDA* в этом семействе. Мы предположили, что локус *FRIGIDA* был дуплицирован еще у общего предка Brassicaceae между дупликацией всего генома (WGD) и двумя последующими трипликациями, еще до разделения lineage I и lineage II и последующего видообразования. У видов lineage II (по крайней мере, у *Brassica*) сохранились оба локуса, а в lineage I (во всяком случае, у *A. thaliana*) один из локусов *FRIGIDA* был утерян.

При филогенетическом анализе последовательности *FRIGIDA* отчетливо разделяются на два кластера, соответствующие lineage I (триба Camelineae) и lineage II (трибы Brassiceae и Eutremeae). Однако два локуса *FRIGIDA* найдены только в lineage II у *Brassica* и, предположительно, *Raphanus* и *Sinapis*. У видов *Arabidopsis, Camelina* и *Capsella* (lineage I), а также у видов *Thellungiella* (lineage II) ген *FRIGIDA* представлен только одним локусом. Три копии *FRIGIDA* у *Camelina sativa* на хромосомах 9, 11 и 18 предполагают трипликацию генома после потери одного из локусов.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РАЗМЕРА ГЕНОМОВ РАСТЕНИЙ, ОБЛАДАЮЩИХ УНИКАЛЬНЫМИ ХОЗЯЙСТВЕННЫМИ СВОЙСТВАМИ

Estimation of the genome sizes in plants with unique economic properties

Фарафонтов Д.С., Зайнуллина Л.Ф.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа, Республика Башкортостан, Россия; dfarafontov@gmail.com

Анализом размера генома тех или иных организмов занимаются во всем мире уже продолжительное время. Созданы базы данных по размерам геномов животных, растений и грибов. Однако, эта тема до сих пор актуальна, так как геномы многих видов остаются неизученными. Кроме того, определение плоидности и количество геномной ДНК отдельных видов животных и растений необходимо для понимания путей и механизмов совместного эволюционирования генов, объединенных в конкретные геномы, а, следовательно, и механизмов возникновения геномов как таковых.

В последнее время для определения содержания ДНК в ядрах растений в подавляющем большинстве исследований используется метод проточной цитофлуориметрии. Эта методика получила такое широкое распространение за счет быстроты анализа и относительной простоты пробоподготовки. Так, с помощью проточной цитофлуориметрии возможно оценить содержание ядерной ДНК и определить степень плоидности генома на уровне единичного ядра: суспензия окрашенных красителем (пропидиум йодид, бромистый этидий и др.) ядер, проходящих через проточную ячейку цитофлуориметра, возбуждается лазером, что приводит к флуоресценции красителя с последующей детекции флуоресцентного сигнала. Плоидность и размер генома (миллион пар нуклеотидов, м.п.н.) определяют в соответствии с интенсивностью флуоресценции ядер, которая пропорциональна содержанию ДНК.

В нашей работе были использованы два вида растений, обладающих уникальными хозяйственными свойствами – параспония Андерсона (*Parasponia andersonii*) и чекалкин орех (*Xanthoceras sorbifolium*). Параспония Андерсона распространена на островах Океании и является единственным небобовым видом растений, способным вступать в симбиоз с азотфиксирующими бактериями, что дает основание относить ее к почвоулучшающим растениям. Чекалкин орех - один из декоративных представителей семейства ореховых, представляющих хозяйственную ценность. Деревья обладают целебными и важными в техническом отношении свойствами, достаточно высокой устойчивостью к низким и высоким температурам. В ядрах плодов ореха содержится 50–70% питательных масел, содержащих незаменимые жирные кислоты.

Анализ размера и плоидности геномов исследуемых видов растений проводили на проточной цитофлуориметре Cytomics FC 500 (Beckman Coulter, США). Численную обработку гистограмм флуоресценции ядер проводили с помощью программы FCS Express 4.0 (De Novo Software, Канада). В каждой пробе анализировали 30000 событий. В качестве контрольных растений с известными размерами геномов нами были выбраны рис посевной (*Oryza sativa*), размер генома которого составляет 489 м.п.н. и табак обыкновенный (*Nicotiana tabacum*) с размером генома 5066 м.п.н. С помощью ДНК-гистограмм определяли абсолютное содержание ДНК в клетках растений разных видов и вычисляли размер ядерного генома - величину С (в пкг и парах оснований ДНК). Нами было выявлено, что содержание ДНК в ядрах параспонии составляет 0,596 пкг, а размер ее генома - 583 м.п.н. Размер генома чекалкина ореха - 528 м.п.н., содержание ДНК в ядрах - 0,54 пкг. Кроме того, нами была определена степень плоидности генома двух исследуемых видов. Так, чекалкин орех является диплоидом, а параспония имеет тетраплоидный набор хромосом.

Таким образом, в ходе проведенного анализа были установлены размер генома и плоидность не исследованных ранее видов - параспонии Андерсона и чекалкина ореха.

ИСПЫТАНИЯ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ОСИНЫ И БЕРЕЗЫ С ГЕНАМИ BAR И GS1 НА УСТОЙЧИВОСТЬ К ГЕРБИЦИДУ "BASTA" В ПОЛУНАТУРАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ

Testing transgenic aspen and birch plants with bar and GS1 genes for resistance to herbicide "Basta" under semi-natural conditions

Фасхиев В.Н.[1,2], Лебедев В.Г.[1], Шестибратов К.А.[1]

[1] *Федеральное государственное учреждение науки Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Пущино, Россия*
vfaskhiev@ya.ru

[2] *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Пущинский государственный естественно-научный институт», Пущино, Россия*

Глюфосинат аммония (фосфинотрицин, PPT) является действующим веществом ряда гербицидов ("Basta", "Finale", "Liberty") и представляет собой структурный аналог глутаминовой кислоты. Он ингибирует глутаминсинтетазу (GS), ключевой фермент биосинтеза азота в растениях, что вызывает накопление аммония, приводящее к гибели растительной клетки. Ген *bar* кодирует фосфинотрицин ацетилтрансферазу, которая инактивирует глюфосинат путем ацетилирования. Поскольку мишенью фосфинотрицина является глутаминсинтетаза, сверхэкспрессия GS может также привести к некоторой устойчивости к PPT. Объектами нашего исследования являлись три трансгенные линии березы (*Betula pubescens*) и 6 линий осины (два генотипа *Populus tremula*) с геном *bar* из *Streptomyces hygroscopicus*, а также пять линий березы с геном GS1, кодирующим цитозольную форму глутаминсинтетазы из *Pinus sylvestris*.

Трансгенные растения осины и березы высотой 50-60 см в условиях открытой площадки были обработаны гербицидом «Basta», содержащим 15% фосфинотрицина. Для растений с геном *bar* и нетрансгенного контроля дозы были эквиваленты 2,5; 5 и 10 л/га, для растений березы с геном GS1 - 2,5 и 5 л/га.

Трансгенные растения осины с геном *bar* показали высокую степень устойчивости ко всем дозам гербицида: при концентрации 2,5 л/га не было никаких следов поражений, при концентрациях 5 и 10 л/га на части листьев наблюдалось незначительное поражение в виде небольших пятен некроза, не превышающих 10% площади листа. У контрольных растений через 3 дня после обработки наблюдался полный некроз всех листьев. Растения березы оказались более устойчивыми к PPT: у контрольных растений березы через 3 дня после обработки было поражено 40-60% листьев, а полный некроз наблюдался только через 7 дней. У трансгенных растений березы с геном *bar* незначительные пятна некроза наблюдались только при максимальной дозе гербицида 10 л/га. Трансгенные растения березы с геном GS1 показали схожую с контролем степень поражения.

Поскольку после обработки гербицидом происходит обезвоживание ткани, содержание воды в листовой ткани можно использовать как один из параметров оценки степени устойчивости. У растений осины до обработки содержание воды составляло 58-62% в зависимости от генотипа, у контрольных растений после обработки этот показатель упал до 22-25%, в то время как у трансгенных растений существенно не изменился. Содержание воды у устойчивых линий березы с геном *bar* не изменилось и составило 52-56%, у контроля этот показатель упал до 28-33%. У трансгенных растений березы с геном GS1 содержание воды снизилось только до 37-45%, несмотря на наличие внешних признаков поражения сходных с контролем.

Анализ содержания аммония (NH_4^+) в листовой ткани трансгенных растений осины с геном *bar* не показал статистически достоверных отличий до и после обработки, при этом для контрольных растений содержание аммония увеличилось более чем в 4 раза (с 21-26 до 62-97 мг/г сыр. веса). У линий березы с геном *bar*, устойчивых к PPT, наблюдалась схожая картина, содержание аммония не изменилось до и после обработки и составило 8-13 мг/г сыр. веса. У контрольных растений березы содержания аммония возросло с 10-15 до 59-83 мг/г сыр. веса. Растения березы с геном GS1 показали повышение устойчивости к низкой дозе гербицида: у двух из пяти трансгенных линий содержание аммония выросло только до 16-22 мг/г сыр. веса и достоверно не отличалось от устойчивых линий березы с геном *bar*.

Статистическая оценка биометрических параметров (высоты и диаметра ствола) в конце вегетационного сезона показала, что обработка гербицидом не повлияла на ростовые параметры растений осины и березы с геном *bar*.

Исследования показали, что линии осины и березы с геном *bar* обладают высоким уровнем устойчивости к фосфинотрицину и могут быть рекомендованы к практическому использованию. Некоторые линии березы со встроенной дополнительной копией гена GS показали снижение накопления аммония по сравнению с контролем, но впоследствии погибли. Возможно, что увеличение содержания аммония является не единственной причиной гибели растений при ингибировании глутаминсинтетазы.

ВЛИЯНИЕ 24-ЭПИБРАССИНОЛИДА НА ЛИПИДНЫЙ СОСТАВ СТАРЕЮЩИХ ЛИСТЬЕВ ГОРОХА

Effect of 24-epibrassinolide on lipid composition in senescent pea leaves

Федина Е.О., Ярин А.Ю., Мухитова Ф.К., Чечеткин И.Р., Гречкин А.Н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук, Казань, Россия; solo_nika@mail.ru

Старение листьев растений – сложный процесс финальной стадии жизни растений, характеризующийся радикальными изменениями во всех компартментах клеток, и сопровождающийся изменениями на уровне всех макромолекул, в том числе и липидов. В последние годы появились немногочисленные работы, в которых предполагается участие брассиностероидов – фитогормонов стероидной природы – в регуляции процессов старения клеток растений. Однако, оценка влияния брассиностероидов на состав липидов стареющих тканей растений никем не проводилась. Цель данной работы являлось изучение изменения в составе свободных жирных кислот (ЖК) в стареющих листьях *Pisum sativum* под влиянием 24-эпибрассинолида (ЭПБ) – одного из представителей брассиностероидов.

Известно, что старение листьев ускоряется в отсеченных листьях, поэтому их часто используют как тест-систему при изучении старения. В наших опытах объектом исследования служили отсеченные листья нижнего яруса 10-дн. проростков гороха, помещенные в чашки Петри на стерильную среду роста без фитогормона (контрольный вариант), либо с добавлением ЭПБ в концентрации 1 пМ и 0,1 мкМ. Чашки Петри с отсеченными листьями выдерживали в течение 15 суток на свету (10 клк).

Исходным контролем являлись неотсеченные листья 10-дневных растений, выращенные на стерильной среде роста без добавления ЭПБ. Нейтральные липиды отделяли от других классов методами колоночной и тонкослойной хроматографии. Свободные ЖК, содержание которых изменялось под действием фитогормона, были идентифицированы с помощью хромато-масс-спектрометрии.

При изучении спектра свободных жирных кислот (ЖК) в исходных (неотсеченных) контрольных листьях гороха была выявлена группа оксилипинов: субериновая, азелаиновая и себациновая кислоты. Также выявлены миристиновая, пальмитиновая, стеариновая и 18:1 ЖК. Наибольшим содержанием отличались субериновая, азелаиновая кислота, а также пальмитиновая и стеариновая ЖК. В стареющем контроле наблюдали большое снижение содержания всех выявленных ЖК, а также отсутствие оксилипинов, идентифицированных в исходном контроле (неотсеченные листья).

ЭПБ в низкой концентрации (1 пМ) также сильно снижал содержание ЖК, однако, мы наблюдали наличие суберинoвой и азелаиновой кислоты. ЭПБ в высокой концентрации (0,1 мкМ) вызывал резкое повышение содержания миристиновой, пальмитиновой и 18:1 ЖК, что указывает на активацию фитогормоном специфических липаз в клетках.

Утилизация свободных ЖК может происходить через бета-окисление липидов, где конечный продукт их распада (ацетил-СоА) поступает в цикл Кребса для получения энергии. Результаты по увеличению содержания миристиновой и пальмитиновой ЖК по сравнению с остальными вариантами, индуцируемое высокой концентрацией ЭПБ, указывают на активацию энергетического метаболизма стареющих клеток при действии высокой (0,1 мкМ) концентрации ЭПБ.

Известно, что образование азелаиновой кислоты, идентифицированной как в исходном контроле, так и в стареющих листьях при действии низкой (1 пМ) концентрации ЭПБ, может происходить через гидропероксидлиазный путь, а также из 18:1 ЖК. Существуют данные о том, что азелаиновая кислота опосредует образование глицерин-3-фосфата, который регулирует экспрессию генов системного иммунитета растений. В свою очередь, глицерин-3-фосфат участвует в образовании фосфатидной кислоты – вторичного мессенджера фосфатидатной сигнальной системы. Таким образом, низкая концентрация фитогормона, индуцируя образование азелаиновой кислоты, вероятно, вносит вклад в индукцию устойчивости листьев к неблагоприятным внешним факторам.

РОЛЬ ДВУХВАЛЕНТНЫХ КАТИОНОВ КАЛЬЦИЯ И ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ В СВЕТОВОЙ РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ФУМАРАТГИДРАТАЗЫ В КУКУРУЗЕ

The role of calcium cations and transcription factors in light regulation of fumarate hydrotase in maize

Федорин Д.Н., Епринцев А.Т., Черкасских М.В.

Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия; bc366@bio.vsu.ru

Цикл Кребса (цикл трикарбоновых кислот) – один из ключевых метаболических путей, функционирующих в митохондриях, играющий большую роль в метаболизме клетки. Одной из реакций цикла является реакция окисления фумарата до малата, катализируемая фумаратгидратазой (ФГ, 4.2.1.2), маркерным ферментом цикла трикарбоновых кислот. Фумараза обнаружена как в митохондриях, так и в цитозоле некоторых организмов. Ее количественное соотношение, не всегда одинаково, у разных организмов и на это влияют различные факторы. У млекопитающих фумараза имеет следующее распределение - цитозольной, по отношению к митохондриальной, более пятидесяти процентов.

Поскольку фумаратгидратаза является маркерным ферментом ЦТК и митохондрий, поэтому его функционирование связано с регуляцией всего энергетического метаболического цикла клетки. Кроме того, цитоплазматическая форма фумаразы, вероятно, обеспечивает синтез биосинтетических интермедиатов. Поэтому актуальным представляется исследование различных механизмов регуляции фумаратгидратазы, что позволит осуществлять тонкий контроль за скоростью работы митохондрий в целом и цикла Кребса в частности.

Проведено исследование уровня экспрессии генов *fum1* и *fum2* в зеленых листьях кукурузы. Для гена *fum1* наблюдался невысокий уровень экспрессии в зеленых листьях кукурузы, что может быть необходимым для обеспечения синтеза фермента, требующегося для функционирования цикла Кребса и ЭТЦ митохондрий в митохондриях зеленого листа, тогда как экспрессия гена *fum2* полностью выключается.

В ходе работы была выявлена зависимость активности фумаратгидратазы от светового режима, действующего на растения. Полученные результаты по влиянию светового режима на уровень транскрипции гена фумаратгидратазы в листьях кукурузы свидетельствуют, что красный свет вызывает изменения в работе генетического аппарата клетки, приводящих к уменьшению количества мРНК гена *fum1* в клетке растений. Противоположный эффект вызывает действие дальнего красного света и последовательное действие красного и дальнего красного света.

Применение специфического ингибитора кальциевых каналов, рутения красного, позволило установить, что под действием света разной длины волны не происходит изменения скорости транскрипции исследуемого гена в листьях кукурузы в условиях различного светового режима. В условиях облучения растений кукурузы красным, дальним красным и при последовательном действии красного и дальнего красного света не наблюдалось значимых отличий в концентрации транскриптов от темнового варианта (контроль).

Исследование влияния ЭГТА на уровень экспрессии гена fum1 показало, что данный фактор влияет на перераспределение внутриклеточного Ca^{2+} при изменении светового режима, что отражается на характере уровня транскрипции исследуемого гена фумаратгидратазы в зеленых листьях кукурузы в условиях различного освещения. Во всех варианта эксперимента никаких существенных различий исследуемых показателей наблюдались, что свидетельствует о важной роли кальция в трансдукции фитохромного сигнала в ядро растительной клетки. Данные, полученные с применением ингибитора кальциевых каналов и комплексона, позволяют говорить о том, что изменение содержания свободного кальция в ядрах клеток листьев кукурузы связано с его переопределением между компартментами клетки.

С целью выявления участия фактора PIF3 в регуляции скорости экспрессии гена *fum1* была проведена количественная полимеразная цепная реакция в реальном времени. Результаты исследования показали, что интенсивность транскрипции гена *pif3* имеет определенную зависимость от состояния фитохромной системы. Под действием красного света наблюдается высокая скорость экспрессии *pif3*, также как и в растениях, экспонируемых на свету. Однако, при облучении зеленых проростков кукурузы дальним красным светом и последовательным облучением красным и дальним красным светом установлено, что скорость транскрипции исследуемого гена снижается на 30-35%.

На основании результатов исследования можно заключить, что активность фумаратгидратазы и скорость экспрессии гена *fum1* находятся под контролем фитохромной системы. Посредником фитохромного сигнала в растительной клетке выступают катионы кальция, проявляет ингибирующее действие на интенсивность транскрипции гена *fum1*. Активная форма фитохрома вызывает увеличение концентрации кальция в ядре и как следствие скорости транскрипции гена *pif3*, что в свою очередь имеет определенную корреляцию с интенсивность работы гена *fum1*.

ФИТОХРОМНЫЙ МЕХАНИЗМ СВЕТОВОЙ РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ СУБЪЕДИНИЦЫ В СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗНОГО КОМПЛЕКСА В ЛИСТЬЯХ КУКУРУЗЫ

Phytochrome mechanism of light regulation expression of succinate dehydrogenase complex subunit B in leaves of maize

Федорин Д.Н., Карабутова Л.А., Покусина Т.А., Епринцев А.Т.

Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия; bc366@bio.vsu.ru

Взаимосвязь фотосинтеза и цикла Кребса – основных метаболических путей фотосинтезирующих тканей растений - представляет большой научный интерес. Одной из ключевых реакций цикла Кребса, сопряженной с запасанием энергии, является реакция, катализируемая сукцинатдегидрогеназой (СДГ, КФ 1.3.99.1), встроенным во внутреннюю мембрану митохондрий. В связи с этим, его регуляция связана с функционированием одного их энергетических процессов в растительной клетке и играет важную роль в координации дыхания и фотосинтеза. Актуальным представляется исследование вопросов касающихся механизмов такой регуляции на уровне ферментативных систем.

В ходе работы была выявлена зависимость активности сукцинатдегидрогеназы от светового режима, действующего на растения. Установлено, что при переходе растений к фотосинтетической активности наблюдается резкое уменьшение скорости функционирования сукцинатдегидрогеназы. Не высокой уровень активности СДГ в зеленых листьях кукурузы на свету, вероятно, необходим для поддержания активности ЦТК на свету как поставщика биосинтетических интермедиатов.

Изучение уровня транскрипции генов субъединицы В сукцинатдегидрогеназы показало, что в зеленых листьях кукурузы обнаруживается мРНК только гена *sdh2-3.* Вероятно, отсутствие транскриптов генов *sdh2-1* и *sdh2-2* связано с их дифференциальной экспрессией на разных стадиях онтогенеза. Эти результаты позволяют предположить, что в течение прорастания комплекс II, содержащий в своем составе субъединицу В, кодируемую генами *sdh2-1* или *sdh2-2*, постепенно замещается на комплекс II, содержащий субъединицу гена *sdh2-3.* Вероятно, уменьшение уровней экспрессии генов, наблюдаемых для *sdh2-1*, *sdh2-*2 при прорастании семян, являются следствием перехода растительного организма к фотоавтотрофному росту.

Показана зависимость скорости экспрессии гена *sdh2-3* от состояния фитохромной системы. Более того, выявлено, что активность сукцинатдегидрогиназы коррелирует с уровнем транскрипции гена *sdh2-3*, экспрессия которого зависела от светового режима. Полученные результаты по влиянию светового режима уровень транскрипции гена субъединицы В сукцинатдегидрогеназы в листьях кукурузы свидетельствуют, что красный свет вызывает изменения в работе генетического аппарата клетки, приводящих к уменьшению количества мРНК СДГВ в клетке растений. Противоположный эффект вызывает действие дальнего красного света и последовательное действие красного и дальнего красного света. Эти данные указывают на причастность фитохромной системы к контролю активности СДГ на уровне транскрипции генов железо-серной субъединицы.

Фитохромная система может контролировать функциональную активность клетки, изменяя содержание различных мессенджеров в ядре, таких как G-белки, ионы Ca^{2+} и др. С целью выяснения механизмов реализации фитохромного сигнала в растительной клетке, проведено изучение изменения содержания свободных катионов кальция в ядрах клеток. Результаты исследования свидетельствую о четкой корреляции между содержанием кальция в ядрах листьев кукурузы и состоянием фитохромной системы. Показана зависимость содержания катионов кальция в ядрах от состояния фитохромной системы. Исследование уровня содержания кальция в клетках растений в условиях различного светового режима свидетельствуют об изменении данного показателя в зависимости от состояния фитохромной системы. Под действием красного света происходит увеличение содержания кальция в ядре, что указывает на его роль трансдукции фитохромного сигнала и регуляции транскрициии гена СДГ. Применение специфического ингибитора кальциевых каналов рутения красного показало, что изменение содержания свободных катионов кальция в ядрах листьев кукурузы не происходит во всех вариантах светового режима растений. Следовательно, полученные данные позволяют заключить, что механизмом регуляции концентрации кальция в ядрах является его перераспределение между компатрментами клетки. Увеличение Ca^{2+} в ядерной фракции связано с его закачиванием через ядерную мембрану, где важную роль играют кальциевые каналы и помпы.

Таким образом, показано, что под действием активной формы фитохрома происходит внутриклеточное перераспределение свободных катионов кальция, увеличение которого в ядре приводит к запуску определенных механизмов регуляции активности сукцинатдегидрогеназы в листьях кукурузы. Активная форма фитохрома вызывает увеличение концентрации свободных катионов кальция в ядре, что в свою очередь ингибирует работу гена sdh2-3. Противоположный эффект наблюдался при облучении растений дальним красным светом.

ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ МАЛАТДЕГИДРОГЕНАЗНОЙ СИСТЕМЫ В МЕЗОФИЛЛЕ ЛИСТЬЕВ КУКУРУЗЫ ПРИ СОЛЕВОМ СТРЕССЕ

Peculiarities of malatdehydrogenase complex functioning in maize mesophyll cells under salt stress

Федорина О.С., Епринцев А.Т., Гатауллина М.О., Лященко М.С.

Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия; bc366@bio.vsu.ru

C_4- растения не только обладают определенными признаками ксероморфности, но и способны усиливать их при длительном засолении. Особый интерес представляет изучение ответной реакции дифференцированных тканей C_4-растений и метаболических путей, с помощью которых осуществляется интеграция работы мезофилла и обкладки на действие соли. Малатдегидрогеназная (МДГ) ферментная система играет ключевую роль в метаболизме растительных клеток. Адаптивные изменения в работе ферментов МДГ-системы при стрессе существенно отличаются в зависимости от типа ткани. Поэтому целью нашей работы было выявить особенности функционирования МДГ-системы в мезофилле листьев кукурузы при солевом стрессе.

Установлено, что при кратковременном солевом воздействии основные реакции общего адаптационного синдрома локализованы в клетках мезофильной ткани кукурузы, о чем свидетельствует увеличение значений индикаторных показателей развития стрессовой реакции (активация пероксидазы и накопление пролина) именно в этой ткани.

Показано, что засоление приводит к изменениям в функционировании $НАД^+$- и $НАДФ^+$- зависимых ферментов МДГ-системы мезофилла кукурузы. Обнаружена интенсификация работы $НАД^+$-МДГ и $НАД^+$-МЭ в мезофилле кукурузы при засолении, причем наибольшая разница между опытными и контрольными значениями была зафиксирована через час засоления. Характер динамики активности $НАДФ^+$-зависимых ферментов системы в клетках мезофилла под действием соли указывает на ингибирование хлоридом натрия восстановительной реакции цикла Хетча-Слэйка. Обнаружено, что действие растворов соли разной концентрации индуцировало более значительные колебания активности $НАД^+$-МДГ в клетках мезофилла, по сравнению с обкладкой. В мезофильной ткани высокая активность $НАД^+$-МДГ (в 1,6 раз больше контроля) коррелировала с широкой вариабельностью его изоферментного спектра. В контроле в тканях присутствовали 4 изоформы фермента, две из которых (R_f = 0,29 и 0,24) оказались специфичны для мезофилла (изоформы R_f =0,34 и 0,31 были обнаружены как в мезофилле, так и в обкладке). Солевой стресс вызывал появление еще двух дополнительных молекулярных форм фермента с R_f=0,27 и 0,26 в клетках мезофилла.

Выявлено, что стресс-индуцированные изменения функционирования $НАД^+$-МДГ в мезофилле кукурузы затрагивают как цитозольные, так и митохондриальные формы фермента. Индуцибельные формы участвуют в обеспечении поставки органических субстратов (цитоплазматическая) и в интенсификации дыхательного метаболизма (митохондриальная). Показано, что изоферментные спектры $НАД^+$-МЭ и $НАДФ^+$-МДГ в мезофилле не меняются в стрессовых условиях. Изоферментный состав $НАДФ^+$-МЭ так же стабилен и представлен только одной молекулярной формой фермента.

Была проведена четырехстадийная очистка $НАД^+$-МДГ (1.1.1.37) из мезофилла листьев 10-ти-дневных проростков кукурузы. Получены гомогенные препараты двух конститутивных изоформ МДГ, с выходом 6 % и 6,3% и степенью очистки 46 и 71 соответственно. Изучены кинетические свойства обеих изоформ. Константы Михаэлиса (Км) для изоформы 1 по оксалоацетату 172 мкМ, по малату 22 мМ, по $НАД^+$ 435 мкМ и по НАДН 100мкМ, а для изоформы 2 по оксалоацетату 209 мкМ, по малату 14,2 мМ, по $НАД^+$ 270 мкМ и по НАДН 205,8 мкМ. Для прямой реакции pH оптимум первой изоформы составляет 8,5, а второй 9,5. Для обратной реакции pH оптимум равен 7,5 (изоформа 1) и 8,5(изоформа 2). Было исследовано влияние ионов Mg^{2+}, Mn^{2+}, Ba^{2+}, Ca^{2+} на активность очищенных изоформ. Показано, что присутствие ионов Mg^{2+} в концентрации от 0,02 до 10 мМ (в первом случае) и до 8 мМ (во втором) активирует реакцию, а повышение концентрации ионов до 40 мМ, напротив, ингибирует ее. Mn^{2+} является ингибитором обеих изучаемых изоформ, ионы кальция и бария игибируют изоформу 2, а для изоформы 1 в концентрации 0,02-1мМ (Ca^{2+}) и 0,02-0,08(Ba^{2+}) являются активаторами. Увеличение концентрации данных ионов приводит к ингибированию и изоформы 1.

Таким образом, показано, что 150 мМ хлорид натрия уже в первые часы воздействия вызывает изменения в работе четырех ферментов малатдегидрогеназной системы мезофилла кукурузы, причем $НАД^+$-зависимые ферменты активируются при солевом стрессе, а $НАДФ^+$-зависимые снижают свою активность при засолении. Для $НАД^+$-МДГ в клетках мезофилла обнаружена стресс-индуцированная трансформация изоферментного состава. Получены гомогенные препараты двух конститутивных изоформ $НАД^+$-МДГ и изучены их кинетические характеристики.

ВЛИЯНИЕ РАЗНЫХ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА НА ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЙ ОБМЕН РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ

Effect of different growth regulators on redox exchange in wheat plants

Федяев В.В., Набеева Р.А., Фархутдинов Р.Г., Абузгалина Р.И., Ярмухаметова И.А.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Башкирский государственный университет», Уфа, Россия; frg2@mail.ru

Одной из современных тенденций формирования арсенала средств для повышения устойчивости растений инфекционным заболеваниям – это внедрение химических иммунизаторов, способных одновременно сдерживать развитие болезней и воздействовать на физиолого-биохимические механизмы, усиливающие сопротивляемость растительных организмов к фитопатогенам. Весьма перспективными являются соединения, содержащие в своей структуре атомы азота и серы, которые согласно литературным данным являются перспективными и эффективными средствами защиты растений обладающие противогрибной активностью.

В задачи исследования входило изучение влияние соединения на основе 1,3-аминосульфида, тиомочевины, препаратов «Купробисан», «Бисол» и «Биодукс» (спиртовой раствор арахидоновой кислоты с добавками пищевых антиоксидантов) на окислительно-восстановительный обмен растений пшеницы. Эксперименты проводили на 5-7 суточных проростках пшеницы семена которых предварительно замачивали, в течение 24 ч, в определенных концентрациях регуляторов роста. Определяли морфометрические показатели и влияние исследуемых регуляторов роста на активность окислительно-восстановительных ферментов.

Сырая масса побегов и корней пшеницы под влиянием изучаемых препаратов была различной. Наибольшее значение сырой массы наблюдалось у проростков семена, которых были замочены в 1,3-аминосульфиде. У проростков выросших на фоне «Купробисана», «Бисола» и «Бидукса» значение сырой массы было близким и на фоне применения тиомочевины отмечалось самые минимальные показания, особенно в корнях. При определении сухой массы было установлено, что показатели сухой массы в целом повторяли картину полученную при определении сырой массы, за исключением сухой массы корней на фоне тиомочевины. Если по сырой массе отставание составляло около 18%, то сухой массе корней растения выросшие на фоне тиомочевины превышали значения установленные на фоне других препаратов. Определение длины побега и корней показало, что максимальные значения наблюдались на фоне 1,3-аминосульфида, препаратов «Бисол» и «Бидукс». Наименьшие морфометрические показатели наблюдались также на фоне тиомочевины.

Определение содержания белка в проростках показало, что препарат на основе 1,3-аминосульфида и препараты «Бисол» и «Бидукс» стимулировали накопление белка как в побеге, так и в корнях. Содержание белка в корнях было в почти 2 раза меньше, чем на фоне вышеуказанных препаратов.

К числу ферментов ускоряющих окислительно-восстановительные реакции в растении относятся в частности пероксидаза и каталаза участвующие в процессах дыхания проростков. Под влиянием препаратов мы наблюдали высокий уровень активности фермента пероксидаза в побегах растений пшеницы выросших на фоне 1,3-аминосульфида и препаратов «Бисол» и «Бидукс». Причем уровень активности в побегах превышал «корневые» значения примерно в 2 раза. Противоположная картина наблюдалась у растений выросших на фоне тиомочевины и препарата «Купробисан» - активность фермента была выше в корнях, чем в побегах примерно на 75%. При определении активности фермента пероксидаза картина данных была несколько иной. Так наибольшая активность фермента отмечалась в побеге у проростков, выросших на фоне препарата «Купробисан», «Биодукс» и тиомочевина. Активность «корневой» пероксидазы была больше у простков выросших на фоне препарата «Бисол» и 1,3-аминосульфида. Определение содержания супероксиддисмутазы (СОД) показало также на разный характер активации этого антиоксидантного фермента, так большая активность фермента в побегах наблюдалась на фоне препарата «Купробисан» и 1,3-аминосульфида. В то время как влияние препаратов «Биодукс», «Бисол» привело к активации фермента в корнях проростков пшеницы. Воздействие тиомочевины отличалось от других препаратов, мы наблюдали близкие значения активности фермента в побеге и в корне. Считается, что такой продукт ПОЛ, как малоновый диальдегид (МДА), может быть использован как биологический индикатор развития окислительного стресса растений, как показали наши исследования наибольшие значения наблюдались в побегах проростков росших на фоне препарата «Биодукс», «Бисол» и 1,3 аминосульфид. В корнях соответственно значения были соответственно ниже. Препарат «Купробисан» вызвал одновременное активирование перекисного окисления липидов в побеге и корнях, которое мы определяли по содержанию МДА. Сравнительное изучение генерации супероксид аниона вызванное препаратами показало следующую картину: образование супероксид-аниона происходило в большей степени в корнях проростков при действии всех препаратов.

Таким образом, нам удалось показать, что ферменты окислительно-восстановительной системы растений реагируют на предварительно замачивание семян препаратами различной природы. Было установлено, что это проявляется как в степени активации ферментов, так и в локализации активности – в побеге или в корне.

ВЛИЯНИЕ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР НА СОДЕРЖАНИЕ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ У РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ ПО ХОЛОДОУСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ

Effect of low temperatures on the content of low-molecular antioxidants in plants differing in cold tolerance

Фенько А.А., Репкина Н.С., Нилова И.А., Таланова В.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия; angelina911@ya.ru

При действии низких температур в клетках растительных организмов усиливается генерация активных форм кислорода, чрезмерному накоплению которых препятствуют антиоксидантные ферменты и низкомолекулярные соединения. Учитывая это, было изучено влияние низких температур на содержание низкомолекулярных антиоксидантов (глутатиона, пролина и каротиноидов) у различающихся по холодостойкости видов растений.

Опыты проводили на проростках пшеницы (*Triticum aestivum* L.) с. Московская 39 и огурца (*Cucumis sativus* L.) гибрида F1 Зозуля, которые выращивали в климатической камере при постоянных условиях. Недельные проростки пшеницы подвергали действию закаливающей температуры (4°С) в течение 7 сут, а огурца – закаливающей (12°С) и повреждающей (4°С) температур в течение 3 сут. Холодоустойчивость пшеницы оценивали по температуре, вызывающей гибель 50% палисадных клеток листа (ЛТ50) после тестирующего промораживания, а огурца – по выходу электролитов из клеток листьев. Содержание супероксидного радикала анализировали по реакции с нитросиним тетразолием, об уровне перекисного окисления липидов судили по накоплению малонового диальдегида (МДА), содержание свободного пролина определяли методом Бейтса с соавторами, глутатиона – методом ВЭЖХ, каротиноидов – спектрофотометрически.

Установлено, что в начальный период действия температуры 4°С на проростки пшеницы устойчивость клеток листьев к промораживанию повышается, затем продолжает увеличиваться и достигает максимума через 6-7 сут. Воздействие указанной температуры в течение 2–3 сут приводило к накоплению супероксидного радикала и МДА, свидетельствующему о развитии окислительного стресса, однако через 6–7 сут происходило снижение уровня этих соединений и, соответственно, окислительного стресса. Наряду с этим в листьях проростков пшеницы отмечено повышение содержания низкомолекулярных антиоксидантов – глутатиона, свободного пролина и каротиноидов.

На проростки огурца температура 4°С оказывала сильное повреждающее воздействие: уже через 1 сут происходило значительное увеличение выхода электролитов из клеток листьев, а также накопление в них супероксидного радикала и МДА. Вместе с тем, указанная температура вызывала повышение содержания свободного пролина в листьях огурца.

В отличие от этого, при действии закаливающей температуры 12°С на проростки огурца выход электролитов из клеток листьев постепенно снижался. Наряду с этим происходило снижение уровня супероксидного радикала и МДА. Содержание свободного пролина в начальный период действия закаливающей температуры повышалось, хотя его величина была ниже, чем при повреждающей температуре, а уже после суточной экспозиции оно начинало снижаться и через 3 сут возвращалось к исходному значению.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что аккумуляция глутатиона, пролина и каротиноидов способствует защите клеток как холодостойких, так и теплолюбивых растений от негативного влияния активных форм кислорода и инициируемого ими перекисного окисления липидов, что, в конечном счете, приводит к повышению устойчивости к низким температурам.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 14-04-31676–мол_а).

ГИПОКСИЯ В КУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТКАХ *ARABIDOPSIS THALIANA* – ЭТИЛЕН НЕОБХОДИМ

Cultivation of *Arabidopsis thaliana* cells under hypoxia: the necessity of ethylene

Фоменков А.А., Ракитин В.Ю., Мамаева А.С., Новикова Г.В., Носов А.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; Artem.Fomenkov@gmail.com

Хорошо известно, что для выживания в условиях гипоксии растениям необходимо полноценное функционирование сигнального пути этилена. Это подтверждается работами с мутантными растениями *Arabidopsis thaliana* по генам рецепторов этилена или компонентов передачи этиленового сигнала. В частности, мутанты по гену *EIN2* (белка, подобного Nramp металл-ионному транспортеру, С-концевой домен которого переносится в ядро и инициирует транскрипционный ответ на этилен) более чувствительны к гипоксии, по сравнению с растениями дикого типа. Реоксигенация – наиболее губительна для выживания таких мутантных растений.

В условиях суспензионной культуры клетки испытывают своего рода постоянное «затопление», важнейшим следствием которого является гипоксия. Мы показали, что при культивировании суспензионных культур клеток *A. thaliana* дикого типа (Col-0) и мутанта по гену *EIN2* (*ein2-1*) при постоянном содержании кислорода 5% жизнеспособность клеток значительно не меняется, хотя это сказывается на ростовых параметрах и более значительно на синтезе ДНК, уровень которого падает в два раза как в суспензионной культуре Col-0, так и в *ein2-1*.

Если же условия гипоксии усилить, задавая в герметично закрытые сосуды 5% кислорода и культивируя клетки двое суток, то различия в ответе клеток разных генотипов выглядят более наглядно. В течение первых суток при падении содержания кислорода до полутора процентов жизнеспособность клеток менялась незначительно. На вторые сутки, когда уровень кислорода достиг примерно 0.2%, жизнеспособность клеток *ein2-1* резко упала. При реоксигенации жизнеспособность клеток этого генотипа еще больше снизилась.

Наши результаты совпадают с данными литературы по интактным растениям *ein2-1*, которые так же не выдерживают реоксигенацию.

В дополнение к физиологическому ответу культивируемых клеток на гипоксию можно отметить, что в спектре растворимых белков, полученных из клеток *ein2-1*, присутствует мажорный полипептид с молекулярной массой 37 килодальтон, который был идентифицирован нами как глицеральдегидфосфат дегидрогеназа (вторая изоформа цитозольной локализации) – GAPC2. Массовое наличие данного фермента постоянно сохраняется в культивируемых клетках *ein2-1*, но не является мажорным в интактных растениях обоих генотипов и культивируемых клетках дикого типа. Очевидно, что наблюдается биохимическая адаптация клеток *ein2-1* к часто встречаемым условиям гипоксии, что заставило их «укрепить позиции» одного из ключевых ферментов гликолиза, которым является GAPC2.

Анализ уровня матричных РНК транскрипционных факторов (ТФ) группы AP2/ERF, индуцируемых этиленовым сигналом (ERF1) и индуцируемых как этиленом, так и гипоксией (HRE1) показал, что имеются как сходства, так и отличия в регуляции экспрессии указанных ТФ в культуре клеток по сравнению с интактными растениями.

Работа частично поддержана грантом РФФИ № 14-04-00333.

РАЗВИТИЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЙ О ПРЕБИОТИЧЕСКОМ ЭТАПЕ ФОРМИРОВАНИЯ ЦИКЛИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ВЗАИМОПРЕВРАЩЕНИЯ НЕОРГАНИЧЕСКОГО И ОРГАНИЧЕСКОГО УГЛЕРОДА: ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ МЕТАБОЛИЗМ УГЛЕРОДА

Development of knowledge on prebiotic stage of formation of cyclic interconversion of inorganic and organic carbon: photosynthetic carbon metabolism

Фомина И.Р.[1,2], Назарова Г.Н.[1], Биль К.Я.[1,2]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук, Пущино, Россия*
irafomi@rambler.ru; nazgal@mail.ru; karlbiel@hotmail.com

[2] *Biosphere Systems International Foundation, Tucson, Arizona, USA*

Фотосинтез – уникальный процесс, обеспечивающий существование Биосферы. Исследование закономерностей его возникновения и развития, возможно, еще на стадии пребиотической органической эволюции, требует объединенных усилий ученых разных направлений (археология, геохимия, геофизика, биофизика, биохимия, генетика, молекулярная биология и др.). В конце XX в. и, особенно, в третьем тысячелетии работы в данной области проводятся столь интенсивно, что массив новых данных и основанных на них теоретических представлений и гипотез не успевает войти не только в учебники, но и в научные обзоры.

В данном кратком обзоре, посвященном светлой памяти выдающегося американского ученого профессора Андрю Алм Бенсона, рассмотрено развитие теории биохимической эволюции, в основном ее части, касающейся гипотез пребиотического формирования циклических процессов взаимопревращения неорганического и органического углерода. Признание наиболее вероятным местом самозарождения пребиотических, а затем и биотических органических систем поверхность гидротермальных источников древней Планеты стало основой концепции становления хемоавтотрофного обмена энергией и веществом с окружающей средой. Вскоре представления о «колыбели эволюции» из плоских стали трехмерными, поместившись в микроскопические поры коллоидных осадков моносульфидов металлов, оседающих на поверхность гидротермального источника. В научной литературе выдвинута и альтернативная гипотеза о гетеротрофных протоклетках, питающихся абиогенно синтезированной органикой.

Автотрофия – это не только использование неорганического источника энергии и донора электронов для биосинтетических реакций, но и наличие цикла этих реакций, способного осуществлять фиксацию и восстановление CO_2. Такой архаический (CAF, carbon archaic fixation) бицикл мог зародиться и даже самоорганизоваться / самооптимизироваться, согласно биомиметической модели Маракушева и Белоноговой, в виде «сопряженных между собой циклов (восстановительного цитратного и 3-гидроксипропионатного) в парагенезисе с углеводородами как источниками углерода для интермедиатов цикла в гидротермальном геохимическом окружении древней Земли». Эта модель согласуется с более ранними представлениями о ключевой роли восстановительного цитратного цикла (цикла Арнона) в архаическом метаболизме углерода. На роль CAF пути предполагается также ацетил-КоА путь Вуда-Люнгдала. Работы, показавшие абиотическое протекание трех восстановительных реакций цикла Арнона на поверхности освещенного коллоида сульфида цинка, свидетельствуют, что в порах моносульфидов металлов, обладающих свойствами полупроводникового фотокатализатора, была возможна самоорганизация не только хемотрофного, но и фототрофного процесса взаимопревращения неорганических и органических соединений углерода. Развитие живых, то есть ассимилирующих, структурообразующих и реплицирующихся ансамблей органических соединений при изменении условий окружающей среды должно было сопровождаться дивергенцией CAF, определившей развитие у протоклеток первых автотрофных циклов, предположительно - 3-гидроксипропионатного бицикла и восстановительного цитратного цикла.

Необходимость снижения зависимости протоклеток от органических источников углерода привела к формированию, в качестве «надстройки» к циклу Арнона, восстановительного пентозофосфатного цикла Бенсона-Бассэма-Кальвина, характеризующегося наличием одной карбоксилирующей и одной восстановительной реакции. Следует особо отметить, что именно этот путь углерода при фотосинтезе был в середине XX века впервые прослежен Андрю А. Бенсоном с соавторами с использованием разработанного им метода радиохроматографии. У оксигенных фотосинтетиков цикл Бенсона-Бассэма-Кальвина стал основным путем фиксации и восстановления углекислоты. Это позволило «обратить» реакции цикла Арнона в окислительную сторону (цикл Кребса) для использования кислорода в качестве терминального акцептора электронов и послужило «толчком» к эволюционному развитию аэробных форм жизни.

В свете накопленных биологической наукой данных потрясает эколого-биохимическое совершенство и эволюционная устойчивость пентозофосфатного восстановительного цикла. Миллионы лет цикл Бенсона-Бассэма-Кальвина не нуждался в дополнительных биохимических «надстройках», а их развитие, например у C_4- и CAM-растений, не лишило его ключевой роли в фотосинтетическом метаболизме углерода.

УСТОЙЧИВОСТЬ СОРТОВ ОЗИМЫХ ТРИТИКАЛЕ К НАТРИЙ–ХЛОРИДНОМУ ЗАСОЛЕНИЮ

Stability varieties of winter triticale to sodium chloride salinity

Хабиева Н.А., Алиева З.М.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Дагестанский государственный университет, Махачкала, Республика Дагестан, Россия
nadira.xabieva@mail.ru

В современных условиях площади засоленных почв под воздействием различных антропогенных факторов постоянно возрастают. Неблагоприятные воздействия натрий–хлоридного засоления на растения определяются двумя факторами: снижением доступности воды при низких значениях водного потенциала почвенного раствора; токсическим действием ионов натрия и хлора. Воздействия этих факторов приводят к подавлению роста растений и, в конечном итоге, к снижению их урожайности.

Целью нашей работы являлось изучение влияния натрий–хлоридного засоления на рост, накопление биомассы и пролина в корнях и надземных частях растений.

Объектами исследования служили семена сортов (с.) озимой тритикале (*Triticisecale)* из коллекции Дагестанской опытной станции ВИР им. Н.И. Вавилова: Алмаз, Каскад*ПГ511, Сотник, 03-128Т33, Зимогор. Для лабораторного моделирования условий засоления согласно методическим рекомендациям семена 5 сортов тритикале проращивали в чашках Петри на фильтровальной бумаге, смоченной растворами хлорида натрия (NaCl) с концентрацией 86 мМ (0,5%) и 164 мМ (0,98%) и дистиллированной воде (контроль).

Опыты проводили в двукратной повторности, каждый вариант включал 3 чашки Петри, в каждую стерильную чашку Петри с 8 мл раствора NaCl или водой (контроль) помещали по 20 зерновок. Семена проращивали в климатической камере (MLR-352H) при температуре 24±1°С, освещении – 3000 люкс и влажности 80%. На седьмые сутки определяли всхожесть, число корней, длину и массу корней и надземной части и содержание пролина. Полученные результаты обрабатывали статистически, достоверность значений определяли по t-критерию Стьюдента.

Изученные образцы характеризовались различной всхожестью семян в условиях засоления. При этом наименьшая ее величина отмечена в растворе 164 мМ у с. Сотник – 83%, максимальная – у с. Каскад*ПГ511 и Алмаз – 90 и 88% соответственно. В растворе 86 мМ всхожесть семян всех сортов оставалась на уровне контрольных показателей.

Для анализа дифференциации сортов по солеустойчивости сравнивали также прирост корней и надземной части проростков. Культивирование проростков тритикале в растворах NaCl подавляло прирост корней и надземной части у всех сортов, наибольшее снижение этих показателей наблюдалось у с. Каскад*ПГ511 и Зимогор, а наименьшее – у с. 03-128Т33. Размеры корней в наибольшей степени снижались в обоих вариантах растворов NaCl (86 и 164 мМ) у с. Сотник, в наименьшей у с. 03-128Т33. Наиболее высокие показатели величины надземной части в условиях обоих уровней засоления отмечены у с. 03-128Т33, самые низкие – у с. Зимогор. У с. 03-128Т33 в условиях модельного засоления наблюдался и наибольший прирост биомассы корней и надземной части. При этом наиболее интенсивная аккумуляция пролина в тканях проростков происходила у менее устойчивых с. Каскад и Зимогор, наименьшая – у более устойчивого с. 03-128Т33. Более высокое содержание пролина наблюдалось в условиях засоления в надземных органах у всех сортов озимой тритикале. Таким образом, комплексная оценка солеустойчивости сортов позволила выявить большую устойчивость у с. 03-128Т33, наименьшую – с. Зимогор.

НОВОЕ В МЕХАНИЗМЕ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ УСТЬИЦ ПРИ ИЗМЕНЕНИИ УСЛОВИЙ ПРОТЕКАНИЯ ФОТОСИНТЕЗА

New facts of the stomata functioning under changing photosynthetic conditions

Хамидуллина Л.А.[1], Чиков В.И.[1], Ахтямова Г.А.[1], Баташева С.Н.[1], Михайлов А.Л.[2], Тимофеева О.А.[2]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики Российской академии наук, Казань, Татарстан, Россия*

[2] *Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Татарстан, Россия; larxas@list.ru*

Впервые показано участие апопластной инвертазы в регуляции устьичного аппарата.

В данной работе было проведено исследование фотосинтеза у растений томатов дикого типа (*Lycopersicon esculentum* L.) сорта Moneymaker и трансформантов, у которых экспрессия генов апопластной инвертазы в листьях была подавлена с помощью РНК интерференции (форма Lin8-RNAi) в различных условиях.

Характер влияния генетической трансформации на фотосинтез зависел от запроса на ассимиляты со стороны потребляющих органов. При выращивании растений в сосудах с ограниченным объемом почвы на начальном этапе роста, когда ростовые процессы наиболее интенсивны, растения Lin8-RNAi отличались повышенным фотосинтезом по сравнению с растениями дикого типа. По мере исчерпания запасов минерального питания фотосинтез опытных растений снижался, при этом у формы Lin8 RNAi в большей степени. Анализ распределения ^{14}C среди продуктов 3-минутной ассимиляции $^{14}CO_2$ показал снижение у Lin8 RNAi включения ^{14}C в гексозы и повышение включения в продукты гликолатного пути и аспартат. Почвенная подкормка растений нитратным азотом усиливала неуглеводную направленность фотосинтеза, но у трансформантов это было менее выражено. Одновременное измерение CO_2 газообмена и выделения H_2O обнаружило малодостоверное увеличение у Lin8-RNAi фотосинтеза, транспирации и концентрации CO_2 внутри листа. Однако после уменьшения освещенности со 1556 до 771 мкмоль/($м^2$с) через 30-50 мин у растений обоих генотипов происходило снижение фотосинтеза, но при этом транспирация у растений дикого типа снижалась, а у формы Lin8-RNAi увеличивалась.

Полученные нами данные по газообмену растений томата, трансформированных по гену апопластной инвертазы, указывают на участие апопластной инвертазы в работе устьичного аппарата. Под воздействием пониженного освещения устьица должны были закрываться, транспирация снижаться и соответственно, оказывать действие на фотосинтез. Удивительно, этого не наблюдается у растений с подавленным геном инвертазы. Блокирование гена апопластной инвертазы должно существенно менять осмотичность внеклеточной среды вокруг замыкающих клеток (в сторону ее снижения). Замена двух молекул глюкозы и фруктозы на одну молекулу сахарозы снижает осмотичность водной среды и повышает тургор замыкающих клеток, что приводит к открыванию устьиц, и, как следствие, повышаются транспирация и концентрация CO_2 внутри мезофилла.

Блокирование гена апопластной инвертазы оказывает многостороннее действие на газообмен, транспирацию и углеродный фотосинтетический метаболизм. Однако, если растения выращены в одинаковых условиях, то процессы адаптации приводят к тому, что фотосинтетические процессы оказываются согласованными с запросом со стороны органов акцепторов. Поэтому влияние генетической трансформации особенно ярко проявляется при нарушении гомеостаза целого организма. Если блокирование экспрессии гена апопластной инвертазы и, соответственно, повышение экспорта сахарозы из листа поддерживается возможностью активного использования сахарозы в органах-акцепторах, то это изменение оказывает положительное действие на общий обмен веществ.

ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ СТЕРОИДНЫХ ГЛИКОЗИДОВ В КЛЕТКАХ ДИОСКОРЕИ ДЕЛЬТОВИДНОЙ *IN VITRO* ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ КУЛЬТУРЫ В ПОЛУПРОТОЧНОМ РЕЖИМЕ

Steroidal glycosides in suspension plant cells culture of *Dioscorea deltoidea* during semi-continuous cultivation

Ханды М.Т.[1], Титова М.В.[2], Константинова С.В.[1], Кочкин Д.В.[1], Носов А.М.[1]

[1] *Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия; handy_89@mail.ru*
[2] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; handy_89@mail.ru*

Культура клеток высших растений – это экспериментально созданная популяция соматических клеток, перспективный источник биологически активных веществ. Однако успешных примеров масштабного промышленного использования клеток высших растений *in vitro* немного. Это связано, прежде всего, с трудностью получения штаммов-продуцентов, трудоемкостью работ по оптимизации их выращивания и сложностью масштабирования процессов культивирования. Кроме того, известно, что культуры клеток высших растений часто характеризуются нестабильностью процессов роста и синтеза целевых вторичных метаболитов при длительном выращивании. Для решения этих проблем и создания эффективных биотехнологий на основе растительных клеток *in vitro* необходим комплекс работ, в том числе исследование общих закономерностей роста и вторичного метаболизма клеток растений *in vitro*. Одним из наиболее перспективных источников стероидных гликозидов является культура клеток диоскореи дельтовидной *Dioscorea deltoidea* Wall. Ранее было показано, что клетки *D. deltoidea* штамма ИФР-ДМ-0,5 содержат преимущественно стероидные гликозиды фуростанолового ряда, при этом мажорными соединениями являются протодиосцин и дельтозид а также их S-изомеры. Однако закономерности изменения их качественного и количественного состава при выращивании культуры в биореакторах изучены не были.

В качестве объекта исследования использовали суспензионную культуру клеток *D. deltoidea*, штамм ИФР-ДМ-0,5-2У. Культуру выращивали на модифицированной среде MS с добавлением 2,4-Д и кинетина. Для аппаратурного выращивания использовали барботажный биореактор с рабочим объемом 15л. Расход воздуха составлял 0,1-1,0 л/л/мин, концентрацию растворенного кислорода pO_2 поддерживали на уровне 10-40% от насыщения, температура выращивания 26±0,5°С. В качестве инокулята использовали культуру, выращенную в стандартных условиях в колбах объемом 2,0 л. Использовали полупроточный (отливно-доливной) режим выращивания. Слив суспензии и добавление свежей питательной среды производили при концентрации сухой биомассы, соответствующей началу фазы замедления роста (7,0-9,0 г/л). Для исключения лаг-фазы разведение рассчитывали таким образом, чтобы концентрация сухой биомассы в начале каждого цикла была не менее 2,5-3,0 г/л. Рост и физиологическое состояние культуры характеризовали, определяя сырую и сухую массу, а также жизнеспособность клеток. Качественное и количественное содержание фуростаноловых гликозидов в сухой биомассе определяли методом ВЭЖХ (Agilent 1200 Series; Pecosphere 3CR C18, 83×4,6 мм, 3 мкм, детекция по поглощению при 203 нм.) Элюирование осуществляли в изократическом режиме при соотношении ацетонитрил : вода (24 : 76. Количественное содержания S- и R-изомеров дельтозида и протодиосцина определяли по стандарту R-протодиосцина чистотой 98%.

Было проведено четыре последовательных цикла выращивания культуры клеток *D. deltoidea* в биореакторе в полупроточном режиме. Установлено, что ростовые характеристики культуры к третьему циклу выращивания существенно ухудшились. Индекс роста в первом цикле был более 5, тогда как в последующих циклах снизился до 3; удельная скорость роста клеток к третьему циклу культивирования снизилась с 0,12 сут.$^{-1}$ до 0,05 сут.$^{-1}$, продуктивность по сухой биомассе – с 0,53 г/л сут. до 0,25 г/л сут. В то же время, жизнеспособность культуры сохранялась на достаточно высоком уровне - 80-95%. Отмеченное ухудшение ростовых характеристик обусловлено, по всей видимости, неоптимальной начальной плотностью культуры.

Выращивание клеток в полупроточном режиме привело также к снижению общего содержания фуростаноловых гликозидов. Если в исходной культуре (колбы) содержание гликозидов составляло 8,3% к сухой массе клеток, то к концу первого цикла оно снизилось до 5,6%, а в последующих - до 1,9-2,6%. Наиболее важно, что выращивание культуры в барботажном биореакторе привело к значительным изменениям в спектре содержания протодиосцина и дельтозида и их S-аналогов. В исходной культуре (колбы) содержание протодиосцина было в 2 раза выше чем дельтозида (соотношение протодиосцин : дельтозид 2 : 1), при выращивании в биореакторе содержание этих соединений к 3 циклу стало одинаковым (соотношение протодиосцин : дельтозид 1 : 1). Также произошли изменения в соотношении R и S форм гликозидов – если в исходной культуре это соотношение составило 2 : 1, то при выращивании в биореакторе оно постепенно увеличилось до 2,6 : 1, причем практически в одинаковой степени для протодиосцина и дельтозида.

Можно заключить, что содержание стероидных гликозидов коррелирует с интенсивностью роста культуры и при выращивании клеток в полупроточном режиме наблюдается значительное снижение общего содержания гликозидов пропорционально снижению ростовых показателей. Образование изомеров дельтозида и протодиосцина в культуре клеток весьма лабильно и также зависит от интенсивности роста клеток *in vitro*. При снижении ростовых показателей в большей степени снижается содержание S-форм гликозидов.

ДВЕ ПОДСИСТЕМЫ ГРАДИЕНТА ВОДНОГО ПОТЕНЦИАЛА В СИСТЕМЕ «КОРЕНЬ-ЛИСТ» ЦЕЛОГО РАСТЕНИЯ – РЕАКЦИЯ НА ДЕЙСТВИЕ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ФАКТОРОВ

Two subsystems of water potential gradient in "root-leaf" system of whole plant – a response to unfavorable conditions

Харчук О.А., Кириллов А.Ф., Козьмик Р.А., Кириллова Э.И., Баштовая С.И., Кистол М.

Институт генетики, физиологии и защиты растений АН Республики Молдова, Кишинев, Республика Молдова; kharchuk.biology@mail.ru

Приводятся результаты изучения изменений водного потенциала в системе «корень-стебель-лист» растений *Glycine max* L. в зависимости от действия засухи и повышенного содержания солей в почве.

Исследования проводили в 2013-2014 гг. в условиях вегетационного комплекса с растениями сои сорта Аура, районированного в Республике Молдова. Растения выращивали в сосудах на 10 л, почва – чернозем обыкновенный. Засоленный фон создавали при набивке сосудов добавлением бикарбоната натрия в количестве 0,15% от сухой массы почвы. Растения подвергали краткосрочной засухе в фазе цветения и в фазе наполнения семян. Схема эксперимента: 1) незасоленная почва, 70% ПВ (контроль); 2) засоленная почва, 70% ПВ; 3) незасоленная почва, повторяющаяся дважды засуха при 35% ПВ; 4) засоленная почва, повторяющаяся дважды засуха при 35% ПВ.

Действие неблагоприятных условий (засуха, засоление) в период цветения растений увеличивает разность водных потенциалов (листья минус корни). На первом этапе исследования было установлено, что при неблагоприятных условиях изменяется градиент водного потенциала между корнем и листом, что приводит к ослаблению или даже изменению направления потока воды в растении, демонстрируя нарушение функциональной целостности водного статуса на уровне организма. Воздействие неблагоприятных условий на растения сои изменяет Ψw по разному в последовательности органов растений: в системе целого растения градиент потенциала воды в базипетальном (лист корень) направлении для растений всех вариантов отрицательный, но абсолютные значения водного потенциала отличаются в зависимости от специфики неблагоприятного фактора, градиент становится менее отрицательным, что приводит к ослаблению потока воды в акропетальном направлении. Полученные данные позволяют выделить в градиенте водного потенциала целого растения две подсистемы - «корень-стебель» и «стебель-лист».

На основании измерений градиентов водного потенциала в двух подсистемах целого растения – акропетальной (лист – стебель) и базипетальной (стебель – корень) установлена различная роль этих подсистем в регуляции водного статуса целого растения. Показано, что в фазе цветения ослабление транспирации из-за уменьшения негативного градиента водного потенциала происходит в основном за счет базальной подсистемы (стебель-корень).

Изменения градиента водного потенциала при действии засухи и засоления приводит к снижению листовой поверхности, общей сухой массы и семенной продуктивности растений сои. Одним из результатов снижения при засухе градиента водного потенциала в системе «корень-лист» целых растений сои является, в частности, снижение накопления масла семян в расчете на единицу листовой поверхности растений: на незасоленном фоне – в 1,9 раза, на засоленном – в 3,1 раза.

ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ИОННОГО СТАТУСА В СИСТЕМЕ «КОРЕНЬ-СТЕБЕЛЬ-ЛИСТ» РАСТЕНИЙ СОИ *GLYCINE MAX* L. ПРИ ДЕЙСТВИИ ЗАСУХИ И ЗАСОЛЕНИЯ

Heterogeneity of ionic status in "root-stem-leaf" system of *Glycine max* L. plants under drought and salinity

Харчук О.А.[1], Кириллов А.Ф.[1], Митина Т.Ф.[2], Козьмик Р.А.[1], Кириллова Э.И.[1], Баштовая С.И.[1]

[1] *Институт генетики, физиологии и защиты растений АН Республики Молдова, Кишинев, Республика Молдова; kharchuk.biology@mail.ru*

[2] *Институт химии Академии наук Молдовы, Кишинев, Республика Молдова*

Отношение содержания калия к натрию в тканях растений является адекватным показателем физиологического состояния растений, чем содержание этих ионов по отдельности, особенно при засолении, где это отношение может уменьшаться от 5-10 в незасоленном контроле до 0,2 при сильном хлоридном засолении. В литературе имеются указания на корреляцию содержания и других лементов минерального питания с показателями продуктивности растений сои.

Исследования проводили в 2012-14 г в условиях вегетационного комплекса с растениями сои сорт Аура, районированного в Республике Молдова. Растения выращивали в сосудах на 10 л, почва – чернозем обыкновенный. Засоленный фон создавали при набивке сосудов добавлением бикарбоната натрия в количестве 0,15% от сухой массы почвы. Растения подвергали краткосрочной засухе в фазе цветения и в фазе наполнения семян. Схема эксперимента: 1) незасоленная почва, 70% ПВ (контроль); 2) засоленная почва, 70% ПВ; 3) незасоленная почва, повторяющаяся дважды засуха при 35% ПВ; 4) засоленная почва, повторяющаяся дважды засуха при 35% ПВ.

Для растений нашего опыта (образцы для анализов брали с растений в возрасте 100 ДПС) содержание калия в листьях составляло 7-10 г кг независимо от фона влагообеспеченности и засоленности почвы, содержание магния в зависимости от влажности и засоленности было 2,24; 3,27; 3,41 и 4,62 г кг в последовательности вариантов опыта, содержание кальция при хорошей влагообеспеченности было 2,16-3,15, а при засухе - 5,44-5,49 г кг, содержание марганца было 360-550 мг кг. Калий накапливался во всех органах (корень, стебель, лист) примерно в одинаковом, достаточно высоком количестве (0,7-1,5%), что обеспечивало высокое отношение K Na в надземных, фотосинтезирующих органах. Отношение K Na для растений вариантов нашего опыта было максимальным в листьях (90-100, при минимальном значении на варианте засухи на засоленном фоне, 28). Соотношение K Na в стеблях, во-первых, меньше, чем в листьях, а во-вторых, не зависело от уровня влагообеспеченности растений, а только от степени засоления почвы (84-99 для растений незасоленных вариантах и 26-28 для растений засоленного фона). Самое низкое отношение K Na установлено для корней (3-4). Отношение Ca/Mg для растений всех вариантов нашего опыта также (как и K Na) было максимальным в листьях и возрастало на фоне засухи (от 0,96 при хорошей влагообеспеченности до 1,16-1,60 на фоне засухи). Соотношение Ca/Mg в стеблях и корнях (0,25-0,48) меньше, чем в листьях. Соотношение Ca/Mg в корнях не зависит от степени засоления, однако зависит от фона влажности: меньше при высокой влагообеспеченности (0,25-0,27), больше на фоне засухи (до 0,46). Содержание марганца минимально в стеблях (16-25 мг кг). Отношение содержания марганца в листьях к содержанию в корнях меньше для контрольных растений (0,73) и больше для растений, произраставших в условиях комплексного действия засухи и засоления (4,35). В целом, корни растений всех вариантов опыта максимально накапливали натрий.

Для оценки возможного влияния минерального статуса в системе «корень-лист» растений сои на продуктивность и урожайный индекс растений мы определяли семенную продуктивность, содержание масла в семенах и листовую поверхность растений, что позволило нам использовать интегральный показатель эффективности накопления масла растениями сои - накопление масла на единицу площади листовой поверхности растений. В условиях хорошей влагообеспеченности это показатель составлял от 0.17 до 0,25 г масла семян на 1 дм^2 листовой поверхности, а в условиях засухи – 0,08-0,09 г масла семян на 1 дм^2 листовой поверхности.

Между содержанием калия в листьях растений вариантов нашего опыта и накоплением масла в расчете на единицу листовой поверхности корреляция отсутствовала. Повышенное содержание кальция в листьях (при засухе) отрицательно коррелировало с накоплением масла листовой поверхностью (примерно такую же корреляцию, но менее выраженную) мы наблюдали для магния.

АКТИВНОСТЬ ПЕРОКСИДАЗЫ В КОРНЕВИЩАХ И КОРНЯХ ОРХИДНЫХ УМЕРЕННОГО КЛИМАТА СЕВЕРНОГО ПОЛУШАРИЯ В ПРОЦЕССЕ МИКОРИЗООБРАЗОВАНИЯ

Peroxidase activity in the rhizomes and roots of temperate climate orchids in the northern hemisphere during the process of mycorrhiza formation

Холмогоров С.В., Маракаев О.А.

Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, Ярославль, Россия; serg_kholm@mail.ru

Физиолого-биохимические взаимодействия в системе «микосимбионт - растение», возникающие в результате развития эндотрофной микоризы у орхидных умеренного климата северного полушария изучены недостаточно. Известно, что гифа гриба проникает через ризодерму в клетки коровой паренхимы, где образует характерные сложные клубки - пелотоны. Распространение гриба происходит в результате повторной колонизации из почвы или путем перехода гиф от одной клетки к другой в коре корня. Проявлением защитных реакций на вторжение гриба является лизис гиф с участием гидролитических ферментов. Одновременно с этим наблюдается повышенная активность оксидазных систем (полифенолоксидазы, каталазы, оксидазы аскорбиновой кислоты), но их роль остается во многом не выясненной. Практически отсутствуют данные об участии в этом процессе пероксидазы - полифункционального фермента, который выступает в качестве одного из звеньев альтернативной дыхательной цепи, обладает повышенной чувствительностью к внешним воздействиям и является важнейшим биохимическим фактором защиты растительных клеток. Однако на ряде неорхидных растений показано, что активность пероксидазы коррелирует с развитием их устойчивости к биотическим стрессам.

Цель работы - выявление активности пероксидазы в корневищах и корнях двух видов орхидных умеренного климата северного полушария *(Listera ovata* (L.) R. Br. и *Epipactis helleborine* (L.) Crantz) в связи с процессом микоризообразования.

Исследовали подземные органы генеративных особей *L. ovata* и *E. helleborine,* которые собирали в фазы листообразования, цветения и плодоношения. Активность пероксидазы определяли спектрофотометрически по увеличению оптической плотности при длине волны 470 нм в результате окисления гваякола в присутствии перекиси водорода. Интенсивность микоризной инфекции и состояние микосимбионта выявляли под световым микроскопом на препаратах, изготовленных из подземных органов после мацерации и окрашивания анилинблау. Статистическую обработку полученных экспериментальных данных проводили по стандартным методикам с использованием программы Excel'2010.

В корневище *L. ovata* выявлено отсутствие микосимбионта и проявляется более низкая (2,7±0,03 - 3,6±0,07 отн. ед./г сыр. массы) активность пероксидазы по сравнению с заселяемыми грибом корнями (3,3±0,04 - 5,8±0,06 отн. ед./г сыр. массы) в соответствующие фазы сезонного развития. При этом с увеличением возраста корня активность фермента повышается на 22-43%. Наиболее высокой активностью пероксидазы отличаются самые старые корни, имеющие максимальную интенсивность микоризной инфекции (30-36%). Это может быть связано с утилизацией перекиси водорода, которая образуется в результате активизации окислительных процессов в тканях, колонизируемых микоризным грибом. В этот период микосимбионт активно проникает в корни, о чем свидетельствует наличие гиф в корневых волосках и межклетниках коровой паренхимы (19-21%). При уменьшении количества гиф до 12-14% и увеличении числа клеток с лизированным микосимбионтом (34-38%) активность фермента понижается. Аналогичная картина изменения активности пероксидазы и развития грибного симбионта свойственна для подземных органов *E. helleborine.* Отличия состоят лишь в более высоких значениях активности фермента в корневище (3,0±0,08 - 3,5±0,06 отн. ед./г сыр. массы) и корнях (4,7±0,05 - 6,1±0,08 отн. ед./г сыр. массы) при одновременно повышенном уровне интенсивности микоризной инфекции (38-40%).

Полученные данные позволяют предположить, что изменения активности пероксидазы в корнях *L. ovata* и *E. helleborine* могут быть связаны как с возрастом подземных органов, так и выявленными в них процессами микоризообразования. Корни исследованных видов, заселяемые микоризным грибом, отличаются более высокой активностью пероксидазы, чем корневища, в клетках которых эндофит не обнаруживается. Возможно, повышенная активность пероксидазы в корнях *E. helleborine* связана с их высокой интенсивностью микоризной инфекции и является следствием защитной реакции клеток на проникновение микосимбионта.

НЕТТО-ФОТОСИНТЕЗ В ИССЛЕДОВАНИЯХ РАЗНООБРАЗИЯ ЭКОЛОГО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ГЕНОТИПОВ

Net-photosynthesis in the research of ecologo-physiological features of genotypes

Холопцева Е.С.[1], Дроздов С.Н.[1], Коломейченко В.В.[2]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск, Россия; holoptseva@krc.karelia.ru*

[2] *Орловский государственный аграрный университет МСХ РФ, Орел, Россия*

Широкое природное разнообразие территории России, изменение климата и мощная антропогенная нагрузка диктуют необходимость изучения роли экологических факторов в развитии растений, определения их требований к меняющимся условиям среды. Приоритетом становится поиск новых видов и выведение сортов, эколого-физиологические характеристики которых отвечают конкретным условиям выращивания (Романенко, 1999; Жученко, 2003). Последнее возможно осуществить путем исследования растений с применением активных многофакторных планируемых экспериментов (АМПЭ) в условиях контроля среды. Полученные таким образом эколого-физиологические характеристики видов и сортов, содержат в себе не только их качественное описание, но и количественную составляющую, а также дают возможность прогнозировать изменения этих показателей в зависимости от смены условий внешней среды.

Особое значение при разработке программы АМПЭ имеет выбор исследуемого показателя – «отклика», функция которого должна всесторонне отражать свойство объекта, определяться количественно, быть статистически эффективной, иметь физический смысл и легко вычисляться. Таким наиболее объективным показателем реакции растений на условия внешней среды является их CO_2-обмен, оперативно отражающий изменения метаболизма, доступный для инструментального измерения без контакта с растением и непрерывно.

В задачи исследований входило проведение АМПЭ по определению свето-температурных условий, обеспечивающих проявление фотосинтетической способности интактных растений ряда видов и сортов: трех сортов клевера красного, четырех сортов люпина узколистного и двух сортов амарантов. Растения выращивали в регулируемых условиях среды в песчаной культуре при поливе питательным раствором, дополненном микроэлементами, при оптимальных для каждой культуры pH среды, фотопериоде, интенсивности света и температуре воздуха и почвы. Посев проводили калиброванными проросшими семенами. Далее, сосуды с растениями, достигшими заданной схемой плана эксперимента фазы развития и соответствующими по внешним признакам стандарту (число листьев, их размер, диаметр и высота стебля, отсутствие внешних повреждений и т д.), переносили в установку для исследования CO_2-газообмена, где по выбранному плану (Голикова и др., 1974) проводили АМПЭ. Расчет интенсивности нетто-фотосинтеза на каждой ступени плана осуществляли путем измерения разности концентрации CO_2 на входе и выходе из ассимиляционной камеры газоанализатором «Infralit–4», включенным по дифференциальной схеме, и распределяли на единицу сухого веса целых растений (Таланов, 1990). Обработка данных методом множественного регрессионного анализа позволила получить уравнения регрессии (модели) влияния факторов среды на интенсивность нетто-фотосинтеза растений (Курец, Попов, 1991).

Определение эколого-физиологической характеристики нетто-фотосинтеза ряда сортов 2 видов бобовых показало, что световой диапазон, обеспечивающий достижение максимума фотосинтетической способности – от 400 Вт·м$^{-2}$ у клевера красного с. Тимирязевец до 570 Вт·м$^{-2}$ у люпина узколистного с. № 843, с. Немчиновский 846 и с. №22 – свидетельствует об их высоком светолюбии. В то же время, температурный диапазон максимума – от 17°С у люпина узколистного с. Ладный до 32,5°С у клевера красного с. ВИК-7 – указывает на наличие среди изученных сортов и видов, как растений умеренных широт, так и теплолюбивых. Среди амарантов А. багряный (с. Султан) значительно более свето- и теплолюбив по сравнению с а. овощным (с. Крепыш): их температурные показатели максимума нетто-фотосинтеза 36,8 и 31,5°С, а световые – 459 и 393 Вт·м^2, соответственно. Закаливание растений двух сортов амаранта и клевера красного низкими положительными температурами порядка 5–10°С повышает их терморезистентность, снижает уровень максимума нетто-фотосинтеза, приводит к сужению границ влияния света и температуры, необходимых для достижения его оптимальных значений и увеличивает интенсивность темнового дыхания за счет возрастания составляющей дыхания поддержания.

Таким образом, исследования показали, что среди изученных видов имеется значительное внутри видовое (сортовое), порой перекрывающее межвидовое, разнообразие, как по интенсивности нетто-фотосинтеза, так и по свето-температурным условиям проявления его оптимума. Полученные в регулируемых условиях внешней среды путем проведения АМПЭ свето-температурные характеристики растений могут найти применение в селекционной работе, интродукции растений, прогнозировании влияния изменения климата на границы ареалов распространения видов, географическом и внутрихозяйственном размещении сельскохозяйственных культур.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания (тема № 0221-2014-0002).

ДЕЙСТВИЕ КАДМИЯ И НИЗКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ CO_2-ГАЗООБМЕНА У ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ

Effect of cadmium and low temperature on the intensity of CO_2-exchange in wheat seedlings

Холопцева Е.С., Таланова В.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск, Россия; holoptseva@krc.karelia.ru

Среди множества неблагоприятных факторов окружающей среды, действующих на растения в условиях северного региона, наиболее важными являются низкие температуры и загрязнение различными поллютантами, в том числе тяжелыми металлами. Среди последних особое место занимает кадмий, являющийся наиболее агрессивным по отношению не только к растениям, но и к человеку. Ранее полученные нами данные позволяют судить о влиянии пониженной температуры и кадмия на жизненно важные физиологические процессы в растениях, в то время как вопросы совместного их воздействия, в частности на газообмен, остаются открытыми. В связи с этим, представляет интерес оценка влияния низкой температуры и кадмия, а так же их совместного действия на газообмен растений.

Эксперименты проводили с растениями озимой пшеницы сорта Московская 39, выращенными в сосудах с песком в факторостатных условиях (температура воздуха 20–22°С, его относительная влажность 66–70%, освещенность 10–15 клк и фотопериод 14 ч) в течение 7 суток при ежедневном поливе питательным раствором. По достижении недельного возраста, проростки в течение 5 сут подвергали действию температуры 4°С или сульфата кадмия (100 мкМ), а также их совместному влиянию. Через 1, 5, 24, 72 или 120 ч от начала воздействия стресс-фактора растения переносили в установку для измерения CO_2-обмена, интенсивность которого определяли с помощью оптико-акустического газоанализатора «Infralyt-4» (Германия).

Результаты исследования показали, что по характеру влияния на CO_2-обмен проростков пшеницы раздельное и совместное действие низкой температуры и кадмия заметно различаются. Температура 4°С вызывает резкое ингибирование нетто-фотосинтеза растений (до 40% от контроля) с дальнейшим его снижением и стабилизацией на уровне 30% от контроля. Воздействие кадмия также приводит к снижению интенсивности этого процесса, но в меньшей степени (до 60% от контроля). В случае совместного действия низкой температуры и кадмия через 24 ч от его начала наблюдается повышение интенсивности нетто-фотосинтеза (примерно до 50% от контроля), а в дальнейшем – его постепенное снижение (до уровня 40% от контроля). Вероятно, при совместном действии кадмия и температуры 4°С происходит активация не только специализированных, но и так называемых неспецифических (общих) механизмов устойчивости к каждому из этих факторов. Это несколько «сглаживает» эффект снижения нетто-фотосинтеза по сравнению с воздействием только холода. Отметим также, что для всех вариантов воздействия характерно уменьшение зависимости CO_2-газообмена от световых условий.

Дыхательная составляющая процесса CO_2-обмена уже в первые часы действия закаливающей температуры снижалась, и эта тенденция сохранялась в течение всего периода закаливания. Напротив, в начале и в конце периода воздействия кадмия происходит временное повышение по сравнению с контролем дыхательной составляющей в процессе CO_2-обмена. В случае совместного действия указанных стресс-факторов снижение интенсивности дыхания оказалось менее выраженным.

Таким образом, в отклике CO_2-обмена растений пшеницы на совместное и раздельное действие холода и ионов кадмия в субповреждающих дозах присутствуют как общие (неспецифические), так и специфические черты, связанные с адаптационными изменениями, соответствующими конкретному виду воздействия и направленные на повышение устойчивости растений.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания (тема № 0221-2014-0002).

ПОИСК МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ ФЕНОТИПИЧЕСКОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ НА ОСНОВЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ СТРЕССОВЫХ БЕЛКОВ

The search for the molecular markers of phenotypic resistance of spring wheat on the basis of the gene expression of stress proteins

Хохлова Л.П.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Республика Татарстан, Россия
hohlova.Ludmila2011@mail.ru

Насущной задачей для эффективной реализации селекционных программ в регионах с рискованным земледелием является создание базы данных экспрессирующихся генов сельскохозяйственных культур и выяснение связи их с выносливостью растений к неблагоприятным условиям среды. Решение этой задачи необходимо для поиска молекулярно-генетических тест-систем с целью проведения надежного скрининга селекционного материала на устойчивость к стрессорным факторам. Известно, что важной составляющей ответов растений на действие повышенных температур и водного дефицита является экспрессия генов стрессовых белков, к которым прежде всего относятся белки теплового шока – БТШ. Почти полностью отсутствуют данные о связи между индукцией генов этих белков и генотипически детерминированной реакцией разных сортов яровой пшеницы на отдельное и совместное действие теплового шока (ТШ) и засухи. Последнее нередко обуславливает кросс-адаптацию, многофакторная регуляция генной активности которой также недостаточно изучена. Объектами исследований являлись листья 7-суточных проростков восьми сортов мягкой яровой пшеницы *(Triticum aestivum L.)* разного эколого-географического происхождения – Омская 33, МиС, Дебют, Амир, Тризо, Тулайковская 10, Тимер, Закамская. Были определены качественные и количественные критерии термостабильности мембран (температура порогового повреждения мембран, величина угла наклона термограмм, коэффициент повреждаемости мембран), которые позволили распределить все сорта по теплоустойчивости на три группы: высоко-, средне- и низкоустойчивые. Растения выращивали в автоматизированном мини-фитотроне с регулируемыми условиями среды. После 7 суток выращивания проростки подвергали ТШ (42ºС, 2ч) в сочетании с различными температурными режимами и атмосферной засухой. Засуху создавали путем прекращения полива 5-суточных проростков в течение двух суток в суховейной камере. Экспрессию генов четырех стрессовых белков – нефотосинтетического малик энзима TANADP-ME2, дегидрина DHN14, серин-треонин киназы W55a, липокалина TATIL изучали методом ОТ-ПЦР, основанном на определении относительного содержания транскриптов (мРНК), показателем которого является накопление ампликонов комплементарной ДНК (кДНК). Экспрессию генов оценивали полуколичественно по ширине и интенсивности окрашивания появляющихся на электрофореграммах полос. По данным литературы, эти белки являются многофункциональными и участвуют в различных сигнальных и метаболических системах. Из полученных данных следует, что исследуемые гены являются конститутивными и экспрессируются как в норме, так и при стрессовых режимах температурного и водного факторов. Наибольшей чувствительностью к изучаемым воздействиям вплоть до полного подавления или ослабления индукции характеризуются ген малик-энзима TANADH-ME2 и ген серин-треонин киназы W55a. У этих генов не выявлены какие-либо закономерные различия между сортами с разной устойчивостью. Однако контрастные различия между устойчивыми и неустойчивыми сортами обнаружены у двух других генов – гена дегидрина DHN14 и гена липокалина TATIL в ответ на отдельное и комбинированное действие ТШ и засухи: экспрессия генов этих белков была значительно больше у высокоустойчивого сорта Омская 33, чем у низкоустойчивого Закамская. Таким образом, можно заключить, что уровни активности генов DHN14 и TATIL, оцениваемые методом относительной ОТ-ПЦР, являются потенциальными молекулярными маркерами тепло- и засухоустойчивости разных сортов яровой пшеницы и могут быть использованы в селекции при создании и отборе более приспособленных к условиям среды новых фенотипов зерновых культур.

РОЛЬ БРАССИНОСТЕРОИДОВ В ПРОЦЕССАХ РОСТА И РАЗВИТИЯ РАСТЕНИЙ КУКУРУЗЫ

The brassinosteroids role in a processes of growth and development of *Zea mays* L. plants

Хрянин В.Н., Пятин М.А.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Пензенский государственный университет», Пенза, Россия; viktor.khryanin@gmail.com

В полевых условиях изучали действие эпибрассинолида (БЛ) на некоторые физиологические процессы у раннеспелого сорта кукурузы Машук-175. Из нескольких концентраций БЛ, испытанных в лабораторных экспериментах, для дальнейших исследований были оставлены только две – 10^{-6} М и 10^{-10} М, оказавшиеся наиболее эффективными в отношении роста и развития растений. После 24 ч замачивания семян в воде, их переносили на такое же время в растворы БЛ, контроль оставляли в воде. После этого их высевали в почву. Результаты показали, что на протяжении всего онтогенеза высота растений, обработанных БЛ в концентрации 10^{-6} М, превышала контрольные на 15-20 см. У опытных растений было большее и число междоузлий (на 2 по сравнению с контролем). Выяснено, что интенсивность дыхания листьев кукурузы в фазу цветения была в 2,5 раза выше у растений в варианте БЛ 10^{-6} М (контроль – 0,9, опыт – 2,3 мг CO_2 на 1 г свежих листьев). Содержание хлорофиллов *a* и *b*, каротиноидов определяли на спектрофотометре Varian Cary 50 при длинах волн, соответствующих максимумам поглощения, определяемых пигментов в ацетоне: λ=663; 646 и 470 нм. Выяснено, что БЛ в концентрации 10^{-6} М повышал содержание хлорофиллов и практически не оказывал действия на содержание каротиноидов. Стимуляция процессов роста, повышение энергетического потенциала и содержания зеленых пигментов сказалось на формировании репродуктивных органов и урожайности растений. Так, под действием БЛ 10^{-6} М увеличиваются такие показатели початков кукурузы как длина и ширина початка, количество рядов в початке и число зерновок. БЛ стимулировал рост метелки в длину и увеличивал число боковых ветвей в метелке. Это приводило к повышению количества фертильной пыльцы, что способствовало более массовому опылению опытных растений. БЛ в концентрации 10^{-6} М увеличивал вес тысячи зерновок и в целом повышал урожайность кукурузы на 7-10%. Опробирование данного метода на больших площадях в полевых условиях позволит рекомендовать его для повышения продуктивности раннеспелых сортов кукурузы, а это очень важно для растениеводства Средней полосы.

ВЛИЯНИЕ БИОПРЕПАРАТА НА МОРФО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ

Influence of the biological product on morfo-fiziological parameters of winter wheat

Хуснетдинова Л.З., Сазонова Н.И.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Республика Татарстан, Россия
Husnetdinova.l@mail.ru

В настоящее время неотъемлемым элементом современной агробиотехнологии являются биопрепараты на основе азотфиксирующих микроорганизмов - один из основных приемов использования в растениеводстве для повышения продуктивности растений.

Большой интерес вызывает явление так называемой ассоциативной азотфиксации. Процесс азотфиксации у небобовых растений идет хотя и слабее, тем не менее имеет важное значение, так как этими растениями засеваются огромные площади. Эти микроорганизмы обладают комплексом полезных свойств. Кроме фиксации азота воздуха, они продуцируют ростовые вещества, повышают коэффициент использования азота минеральных удобрений, положительно влияют на репродуктивные органы растений. В настоящее время широко применяются бактериальные препараты, способные к высокойазотфиксации. Такие препараты имеют разностороннее влияние на развитие и формирование растений, повышают урожайность.

Целью исследования была оценка эффективности действия биопрепарата«Ризоагрин», созданного на основе ассоциативных бактерий, при предпосевной инокуляции семян.

Объектом исследований служили проростки озимой пшеницы (*Triticum aestivum*L.) сорта «Казанская-560». «Ризоагрин» является ростстимулирующим биопрепаратом на основе штамма *Agrobacterium radiobacter* 204. Семена перед посевом стерилизовали в растворе перманганата калия в течение 5-10 мин и промывали проточной водой. Инокуляцию семян пшеницы препаратом проводили в дозе 1,5 л на тонну семян (при разведении в 8-10 л воды) за 10 минут до посева. Семена контрольного варианта обрабатывали водой. Растения выращивали в течение 14 суток.

Сравнительная оценка обработанных и необработанных семян в лабораторных условиях велась по показателям энергии прорастания и всхожести семян в соответствии с ГОСТ 12038–84. Определение морфометрических параметров (высота растений, площадь листьев), проводили, используя общепринятые методики. Сырую массу растений определяли взвешиванием, концентрацию хлорофилла *a* и *b* в листьях спектрофотометрическим методом, количество углеводов (в процентах в пересчете на глюкозу) – по методу Дрейвуда.

Было показано, что предпосевная обработка семян озимой пшеницы биопрепаратом «Ризоагрин» увеличивала энергию прорастания семян, их всхожесть, а также высоту, площадь листьев и биомассу сформировавшихся проростков.

Установлено, что бактеризация семян озимой пшеницы на основе штамма *Agrobacteriumradiobacter* 204 способствовала накоплению в листьях углеводов.

Продуктивность фотосинтетического аппарата определяется содержанием пигментов в надземных органах. Изучение пигментного фонда в проростках пшеницы с применением биопрепарата показало, что содержание хлорофилла *a* и *b* преимущественно выше контрольного варианта.

Таким образом, применение бактериальных препаратов влияла на развитие азотфиксирующей микрофлоры в ризосфере растений, что является эффективным и экологически чистым методом повышения урожайности и пополнения азотного баланса почв.

ГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ РАЗВИТИЯ СИМБИОТИЧЕСКИХ КЛУБЕНЬКОВ

Hormonal regulation of symbiotic nodule development

Цыганова А.В., Кусакин П.Г., Цыганов В.Е.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии Российской академии наук, Пушкин, Санкт-Петербург, Россия; isaakij@mail.ru

Баланс фитогормонов, или гормональный статус, играет важную роль в инициации, развитии и функционировании азотфиксирующих клубеньков бобовых растений (Suzaki et al., 2013).

Для изучения влияния цитокинина и ауксина на дифференцировку симбиотических клубеньков гороха проводился иммуноцитохимический анализ локализации гормонов с использованием методов флуоресцентной и электронной микроскопии. Пробоподготовка образцов для электронной микроскопии была проведена с использованием метода замораживания при высоком давлении. В работе была использована серия исходных и мутантных линий гороха, блокированных на поздних стадиях развития симбиотического клубенька.

В результате было показано, что в двухнедельных клубеньках исходной линии SGE максимум цитокининов наблюдался в зоне инфекции, метка также присутствовала и в зоне азотфиксации. В то же время у мутанта SGEFix$^-$-1 (*sym40*) максимум цитокининов наблюдался в зоне меристемы. При ультраструктурном анализе клубеньков было показано, что у исходной линии SGE цитокинины аккумулируется в слое экзополисахаридов ризобий, в перибактероидном пространстве симбиосом, пластидах и клеточной стенке. В то же время метка отсутствовала в матриксе инфекционных нитей. У мутанта SGEFix$^-$-1 (*sym40*) цитокинины присутствовали в тех же клеточных компартментах, что и у исходной линии SGE, но следует отметить, что количество метки было резко снижено. Роль цитокининов в развитии симбиотического клубенька на поздних стадиях слабо изучена. Предполагается, что тонкий баланс содержания цитокининов в различных зонах клубенька может быть важен скорее для дифференцировки клеток, а не для их пролиферации. Таким образом, наблюдаемое у мутанта SGEFix$^-$-1 (*sym40*) нарушение гистологической зональности клубенька может определяться выявленным в ходе данного исследования нарушением в распределении цитокининов. Ортолог гена гороха *Sym40* у модельного бобового *Medicago truncatula* кодирует транскрипционный фактор EFD, который активирует негативный регулятор цитоконинового ответа RR4 (Vernie et al., 2008). Таким образом, нарушения в регуляции цитокининового ответа, вызываемое мутацией *sym40*, определяет нарушения в локализации цитокининов в мутантном клубеньке, и, как следствие, приводят к нарушениям в его дифференцировке. Вероятное участие цитокининов в дифференцировке клеток симбиотического клубенька, а возможно, и бактероидов также подтверждается выявленным в ходе данного исследования обильным присутствием цитокининов в перибактероидном пространстве симбиосом в клубеньках исходной линии. В то же время у проанализированных мутантов с нарушениями в дифференцировке бактероидов цитокинины практически отсутствуют в симбиосомах.

При иммунохимическом анализе ауксина в клубеньках гороха исходной линии SGE была выявлена преимущественная локализация ИУК в меристеме и периферических тканях клубенька. Данный характер локализации был свойственен и для других исследованных исходных линий и мутантов. Ранее сходная локализация наблюдалась для клубеньков *L. japonicus* (Suzaki et al., 2012).

Проведение иммуноцитохимического анализа позволило исследовать локализацию ИУК более детально. Так было показано, что в клубеньках исходной линии SGE ИУК локализуется преимущественно в ядрах инфицированных клеток, хотя также встречается в амилопластах и цитоплазме. В то же время ИУК практически отсутствовала в матриксе инфекционных нитей, хотя наблюдалась в бактериях, а также в перибактероидном пространстве симбиосом. При исследовании мутанта RisFixV (*sym42*) было показано присутствие ИУК в перибактероидном пространстве симбиосом. В то же время ИУК наблюдалась в характерных для данного мутанта утолщенных клеточных стенках, инкрустированных неэстерифицированным пектином и каллозой. Также наблюдалось значительное присутствие ИУК в деградирующих бактероидах, инкапсулированных неэстерефицированным пектином. Ранее было показано, что ауксин вовлечен в процесс деэстерификации пектина (Braybrook, Peaucelle, 2013). Таким образом, вероятно, что ИУК в симбиотических клубеньках вовлечена в процесс деэстерификации пектина, который необходим для дальнейшего укрепления стенки инфекционной нити, наблюдаемой при активации защитных реакций, характерных для данного мутанта (Ivanova et al. 2015). Следует отметить, что у других неэффективных мутантов также наблюдалось присутствие ИУК в перибактероидном пространстве симбиосом. Таким образом, в ходе данного исследования была выявлена роль ауксина в модификации стенки инфекционной нити при возникновении защитных реакций в ходе развития неэффективного симбиоза.

Работа поддержана грантом РНФ (14-24-00135).

ОСОБЕННОСТИ ВВЕДЕНИЯ ПИОНА ТОНКОЛИСТНОГО (*PAEONIA TENUIFOLIA* L.) В КУЛЬТУРУ *IN VITRO*

Special features of *in vitro* culture introduction of *Paeonia tenuifolia* L.

Чаркова А.А., Мокшин Е.В., Лукаткин А.С.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева», Саранск, Республика Мордовия, Россия; aslukatkin@yandex.ru, evmokshin@yandex.ru

В современном мире актуальна проблема сохранения редких и исчезающих видов растений. Человек, создавая для себя среду обитания, интенсивно воздействует на растительный мир. Вследствие этого нерационального природопользования нарушается экологическая обстановка, уничтожаются места произрастания растений, сокращается их численность.

Люди используют растения практически во всех сферах своей жизни, будь то пищевая, декоративная, строительная и т. д., и главная – средообразующая: растения выделяют O_2, являются первичным звеном в цепях питания, повышают уровень энергии на планете. Поэтому охрана и увеличение численности растений является одной из важнейших задач человечества. Она активно решается с помощью метода микроклонального размножения. Этот метод интенсивно применяется для целей коммерческого размножения пищевых и декоративных растений, так как с помощью данного метода возрастает возможность получить большое количество безвирусного материала. Он может быть применим также при размножении редких и исчезающих видов растений, позволяя наработать в лабораторных условиях большое количество посадочного материала, в последующем реинтродуцируемого в естественные условия обитания. В частности, в данную категорию (редкие и исчезающие растения) входит пион тонколистный (*Paeonia tenuifolia* L.), что послужило одним из критериев его выбора в качестве объекта исследования. В Красной книге России данному виду присвоена категория статуса 2б – вид, сокращающийся в численности. *P. tenuifolia* L. имеет как лекарственную, так и декоративную ценность, что приводит к хаотичным сборам растений и уменьшению их количества. В работе изучали возможности введения пиона тонколистного в культуру *in vitro*.

При введении в культуру *in vitro* пиона тонколистного в качестве первичного экспланта использовали семена, собранные в естественных условиях обитания *P. tenuifolia* L. в Республике Мордовия. Посадку проводили двумя способами: на агаризованную питательную среду (0,7%) с минеральной основой по Мурасиге и Скугу (pH 5,8-5,9), дополненную витаминами B_1 и B_6 (оба по 1 мг/л) и регуляторами роста 6-бензиламинопурином (2,5 мг/л) и индолилуксусной кислотой (1,5 мг/л), либо на бумажные мостики, помещенные в пробирки с дистиллированной водой. Культивирование осуществляли при температуре 26±2°С и естественном освещении.

Для получения хорошо растущей оздоровленной культуры применяли ступенчатую стерилизацию эксплантов. Для этого семена промывали в мыльной воде, ополаскивали в нескольких порциях водопроводной воды, затем последовательно стерилизовали: 0,1% $KMnO_4$ (25 минут), 70% C_2H_5OH (1 минута), 10% раствор хлорамина и 50% раствор Domestos с временной экспозицией 10 и 20 минут. При этом оценивали следующие показатели: инфицированность эксплантов, их состояние и степень жизнеспособности.

В результате проведенных исследований выяснили, что относительно высокий процент стерильных эксплантов – 25% – отмечался в вариантах с использованием 10% раствора хлорамина (20 мин) и 50% раствора Domestos (20 мин) в сочетании с 0,1% раствором KMnO4 и 70% раствором C_2H_5OH.

Поскольку посадку семян пиона осуществляли на две различные среды, следует отметить тот факт, что прорастание семян оказалось более успешным при выращивании на мостиках из фильтровальной бумаги с дистиллированной водой (57,1% от высаженных семян); в то же время на агаризованной среде Мурасиге и Скуга прорастания семян не наблюдали. Побегообразование пиона тонколистного на мостиках с дистиллированной водой отмечено лишь спустя 5 месяцев после посадки. Средняя длина побега составила 11 мм. Полученные растительные объекты в дальнейшем будут использованы для клонального микроразмножения путем микрочеренкования, укоренения растений-регенерантов и перевода их в условия *ex vitro*.

Таким образом, введение в культуру *in vitro* растений из Красной книги, как и последующая работа с ними, имеет свои особенности. Это связано как со специфическими эндогенными факторами, присущими объекту, так и с дефицитом самого исходного материала, что накладывает свои отпечатки на успешность работ в данном направлении. Несмотря на это, размножение редких и исчезающих растений *in vitro* является одним из перспективных направлений в биологии растений.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки России (проект № 6.783.2014К).

ИЗМЕНЕНИЕ ТРАНСКРИПЦИИ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ H^+-АТФАЗЫ ПЛАЗМАЛЕММЫ И ТОНОПЛАСТА В ХОДЕ РОСТА РАСТЯЖЕНИЕМ КЛЕТОК СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЫ ТАБАКА

The shift in the expression of genes, encoding H^+-ATPases of plasma membrane and tonoplast during elongation growth of tobacco cell in suspension culture

Чень Т., Емельянов В.В., Михайлова Ю.В., Романюк Д.А., Шишова М.Ф.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия
mshishova@mail.ru

Согласно современным представлениям регуляция активности H^+-АТФазы плазмалеммы может осуществляться как на транскрипционном, так и на пост-транскрипционном уровнях. Хорошо известны особенности кодирования данного фермента, консервативные регуляторные домены (сайты фосфорилирования, автоингибиторный домен и т.д.). Не вызывает сомнений физиологическая и биохимическая роль H^+-АТФазы плазмалеммы в ходе адаптации клеток растений при действии неблагоприятный факторов. Данный транспортер является неотъемлемой частью протонной сигнальной системы, наряду с H^+-АТФазой и H^+-пирофосфатазой тонопласта. Тем не менее, данные о регуляции активности этих протон-транспортирующих ферментов в ходе физиологических процессов пока еще очень фрагментарны. Активное участие H^+-АТФазы плазмалеммы в процессе роста растяжением стало аксиомой физиологии растений с конца 70х годов прошлого века. Рост растяжением – это интегральный процесс, в реализацию которого включены все компартменты клетки и в первую очередь – вакуоль. Следовательно можно предположить, что наряду с H^+-АТФазой плазмалеммы в реализации роста растяжением принимает участие H^+-АТФаза тонопласта и вакуолярная H^+-пирофосфатаза. Данное исследование ставило своей целью анализ экспрессии генов, кодирующих H^+-АТФазу плазмалеммы и H^+-пирофосфатазы тонопласта, наряду в генами, которые кодируют субъединицы вакуолярной H^+-АТФазы. Исследование проведено с использованием уникальной суспензионной культурой клеток табака Ву-2, сохраняющей в своем цикле развития этап роста растяжением.

Показано, что интенсивность экспрессии некоторых генов, кодирующих H^+-АТФазу плазмалеммы, менялась нелинейно. Максимум накопления продуктов транскрипции для *PMA1, PMA2, PMA3, PMA5*, зафиксирован на 2 неделю развития суспензионной культуры табака, т.е. на этапе наиболее интенсивного роста растяжением. Усиление экспрессии полностью соответствует увеличению фермента в составе везикулярной фракции плазмалеммы, что было показано с помощью иммуноблотт-анализа, а также с усилением гидролитической активности H^+-АТФазы плазмалеммы.

Последующий сравнительный анализ экспрессии генов, кодирующих субъединицы H^+-АТФазы тонопласта, показал, что большинство генов этой группы характеризовались положительным откликом на 2 и 3 неделю развития. Тем самым, впервые получены данные, свидетельствующие об изменении транскрипционного профиля генов вакуолярной АТФазы в процессе роста. Следует отметить, что на этапе завершения роста растяжением экспрессия сохраняется достаточно высокой, что может свидетельствовать о значимости данного фермента на этапе завершения роста. Накопление продуктов транскрипции коррелирует с увеличением числа ферментных комплексов в составе тонопласта и согласуется с изменением гидролитической активности данного фермента.

Совершенно иная тенденция была выявлена для H^+-пирофосфатазы. Наиболее сильная экспрессия гена, кодирующего данный фермент, была максимальной на этапе инициации роста. В этом случае также была обнаружена корреляция с результатами блотт-анализа и анализа гидролитической активности. В ходе роста растяжением значимость этого протон-транспортирующего фермента резко снижается.

Экспериментальные данные с использованием клеток табака согласуются с предложенной ранее моделью регуляции активности H^+-помп плазмалеммы и тонопласта в ходе роста растяжением, которая была предложена на основании результатов, полученных с использованием арабидопсиса и кукурузы, что свидетельствует об универсальности регуляции на транскрипционном уровне.

Работа частично поддержана грантом РФФИ № 13-04-00945-а.

РОЛЬ АРГИНИНА В МЕТАБОЛИЗМЕ ИЗБЫТОЧНОГО АЗОТА У ХВОЙНЫХ РАСТЕНИЙ

Role of arginine in the metabolism of excess nitrogen in conifers

Чернобровкина Н.П., Робонен Е.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт леса Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия; chernobr@krc.karelia.ru

Чрезмерное поступление азота в биосферу, связанное со сжиганием ископаемого топлива, интенсивным животноводством, использованием минеральных удобрений может являться потенциальным источником стрессов у растений (Fangmeier et al., 1994). Симптомы аммонийного отравления и способы снижения токсичности у разных видов растений могут отличаться. Наиболее вероятными механизмами токсичного воздействия аммония в клетках растений являются усиление синтеза этилена, увеличение энергозатратного оттока цитозольного аммония через мембраны, вытеснение аммонием основных катионов из субклеточных компартментов. Избыток аммония отражается на фотосинтетических процессах, что в конечном счете может подавлять ростовые и формообразовательные процессы у растений.

Разбалансированность минерального питания хвойных растений приводит к изменению состава свободных аминокислот (АК) в их тканях (Nasholm, Ericsson, 1990; Gezelius, Nasholm, 1993; Huhn, Schulz, 1996; Engvild, 2005). Распределение азота между растворимыми фракциями в значительной степени зависит от обеспеченности растений азотом, фосфором и другими элементами питания. Рибулозо-1,5-бисфосфат-карбоксилаза/оксигеназа (Рубиско), АК и аммоний могут рассматриваться как соединения, в которых преимущественно накапливается азот, но их аккумуляция в органах и тканях происходит при различных условиях (Warren, Adams, 2002). С увеличением обеспеченности растений фосфором содержание Рубиско увеличивается, а при высоких дозах азота и низкой обеспеченности фосфором, избыточный азот накапливается в форме азота АК и аммония. Чтобы избежать накопления токсичного аммиака у хвойных растений при избытке азота в растительных клетках ассимилируемые соединения азота обезвреживаются путем включения в состав свободных АК, преимущественно в состав Арг, имеющего наиболее низкое по сравнению с другими АК отношение C/N (1.5) (Huhn, Schulz, 1996). Уровень аминокислоты в хвое может увеличиваться более чем в 100 раз (Nasholm, Ericsson, 1990).

Накопление Арг у хвойных растений может происходить и при низкой обеспеченности азотом в случае недостатка серы (Gezelius, Nasholm, 1993). При этом низкая внутриклеточная концентрация серы может отрицательно повлиять на синтез серосодержащих метаболитов, среди них Мет и Цис, что приводит к ассимиляции азота в виде Арг вместо белка. Кроме того, положительно заряженный свободный Арг, который может накапливаться в вакуолях, должен быть уравновешен отрицательными противоионами, такими как органические кислоты, фосфаты и сульфаты (Dietz et al., 1990). Это может увеличить дисбаланс органических соединений и повлиять на клеточный метаболизм. Таким образом, хвойные растения могут накапливать растворимый азот в форме Арг и тогда, когда синтез белка ограничен факторами, отличными от обеспеченности азотом. При дополнительном обеспечении бором сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в условиях высокого фона азота содержание Арг в хвое увеличивалось в десятки раз (Чернобровкина и др., 2010). Оптимизация борного питания способствует поглощению азота корневой системой сосны (Чернобровкина, 2001).

Избыток азота у хвойных растений может наблюдаться в связи с обеспеченностью элементами питания, с сезонной, суточной динамикой, а также с экстремальными условиями их роста и развития (Новицкая Чикина, 1980; Sudachkova et al., 2002; Судачкова и др., 2008; Алаудинова, 2011). Арг накапливается в хвое сосны обыкновенной в ночное время, когда не функционирует конкурирующий за CO_2 фотосинтез, во время которого CO_2 расходуется на синтез органических соединений в темновой фазе фотосинтеза, а не на синтез карбамоилфосфата, который является важным компонентом орнитинового цикла, участвуя в связывании аммония, CO_2 и их превращении в органические азотные соединения.

Более века прошло после открытия Арг у хвойных (Schulze, 1896), была установлена светозависимость процесса накопления у них Арг (Mothes, 1929), но только недавно показана его роль в сезонной регуляции метаболизма у хвойных растений (Durzan, 2010). Увеличение в связи с затенением количества Арг-производных гуанидиновых соединений, являющихся ингибиторами дыхания, способствует переходу хвойного растения в состояние покоя. Весной распад гуанидиновых соединений обеспечивает поступление азота для синтеза Арг, который в сою очередь, является донором азота для синтеза других АК. Некоторые из них являются предшественниками гормонов роста, полиаминов и оксида азота (NO) (Durzan, Steward 1983; Durzan, Педросо 2002). NO поддерживает метаболический гомеостаз у хвойных растений и защищает от окислительного и нитратного повреждения клетки при высокой интенсивности света (Durzan 2002;. Corpas и др. 2008).

Работа выполнена в рамках государственного задания ИЛ КарНЦ РАН, а также при финансовой поддержке Программы фундаментальных исследований ОБН РАН «Биологические ресурсы России: динамика в условиях глобальных климатических и антропогенных воздействий» в рамках проекта № 01201257867.

МОРОЗОСТОЙКОСТЬ ВИДОВ РОДА *HORDEUM* В ПОЛЕВЫХ И ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ

Freeze tolerance of *Hordeum* species in field and laboratory experiments

Чернов В.Е.[1], Аксенов А.И.[1], Пендинен Г.И.[1], Палта Дж. П.[2]

[1] *Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства имени Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия; vechernov@mail.ru*
[2] *Университет штата Висконсин, Madison, Wisconsin, USA; jppalta@wisc.edu*

Северо-Западный регион России входит в специфический регион Земли, расположенный севернее 57° широты. Этот регион планеты расположен близко к обширным морским акваториям, формирующим неустойчивость погодных условий как зимой, так и в летний период. Эти территории подвержены значительным температурным колебаниям на фоне высокой влажности воздуха. Подобные условия относительно хорошо переносятся различными сортами озимой мягкой пшеницы, существующие озимые формы культурного ячменя не переносят условий зимы Северо-Западного региона. Низкая зимостойкость озимого ячменя предполагает поиск путей ее повышения с целью продвижения озимого ячменя в более северные регионы. Одним из возможных путей повышения зимостойкости является перенос генов устойчивости от дикорастущих сородичей ячменя в геном ячменя культурного. Для оценки зимостойкости и морозостойкости озимого ячменя и дикорастущих видов *Hordeum* L. проводили полевые и лабораторные эксперименты по определению относительной зимостойкости культурного ячменя и дикорастущих видов. Многолетние полевые эксперименты проводили в условиях экспериментального поля ВИР.

В полевых условиях в предзимний и зимний периоды оценивали показатели повреждения тканей по выходу электролитов. В результате была установлена средняя относительная эффективность выживания ячменя культурного и его дикорастущих сородичей в процессе перезимовки. Выявлены контрастные по зимостойкости образцы культурного ячменя: устойчивые - Радикал (К- 28821) и Местный (К-16676), и неустойчивый К-17590. Среди дикорастущих видов *Hordeum* наиболее высокую зимостойкость наблюдали у образцов *H. jubatum* W855, высокие показатели зимостойкости наблюдали у образцов *H. bulbosum*.

С целью выявления причин различий в зимостойкости различных образцов культурного ячменя и дикорастущих видов рода *Hordeum* в лабораторных условиях проводили эксперименты по контролируемому последовательному искусственному замораживанию тканей и органов культурного ячменя с учетом интенсивности истечения электролитов. Для культурного ячменя и ряда дикорастущих видов установлены полулетальные температуры LD_{50}, качественный и количественный состав неорганических ионов обуславливающих электропроводность и некоторые органические соединения, входящие в состав электролитов при различных уровнях разрушения клеток и тканей при воздействии низких температур. Установлено, что максимально низкая переносимая температура для относительно устойчивого озимого ячменя *H.vulgare* составляет – 10,2°С. Для наиболее зимостойкого дикорастущего вида *H. jubatum* показатель составляет – 12,6°С. Методами молекулярно-генетического анализа оценивали наличие нуклеотидных последовательностей, входящих в структуру генов, определяющих морозостойкость культурного ячменя у ряда сортов и образцов дикорастущих видов *Hordeum*, а также наличие нуклеотидных последовательностей генов синтеза антифризных белков (AFPs) как у образцов культурного ячменя, так и у дикорастущих видов рода.

Таким образом, применение комплекса методов, определяющих морозостойкость на уровне тканей, а так же использование молекулярных маркеров, позволило провести эффективный отбор образцов с высокой морозостойкостью как среди сортов озимого ячменя, так и среди дикорастущих видов. Установлены температурные границы морозоустойчивости рода *Hordeum* L.

ИНТРУЗИВНЫЙ РОСТ ВОЛОКОН КАК ПРИМЕР ОСОБОГО ТИПА РОСТА РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК

Intrusive fiber growth as an example of particular type of plant cell growth

Чернова Т.Е., Снегирева А.В., Агеева М.В., Горшкова Т.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук, Казань, Россия; chernova.t@mail.ru

Интрузивный рост – один из трех типов роста растительной клетки, наряду с симпластическим и протрузивным, которые различаются по характеру взаиморасположения растущих клеток и согласованности их растяжения. Интрузивный рост – такой тип роста, при котором растущая клетка опережает рост клеток сопредельных тканей, внедряясь в пространство между соседними клетками по срединной пластинке. Не смотря на более чем вековую историю изучения интрузивного роста (к числу первых исследований интрузивно растущих клеток относится работа T. Tammes, опубликованная в 1907 г.), такой тип роста, на сегодняшний день, относится к числу наименее охарактеризованных. Прежде всего, это объясняется сложностями принципиального характера и требует разработки нетривиальных подходов.

Примеров интрузивно растущих клеток растений можно привести несколько: веретеновидные инициали камбия, млечники, пыльцевые трубки, склереиды и волокна склеренхимы. Волокна принадлежат к числу наиболее длинных растительных клеток, причем своей длины в несколько сотен миллиметров, волокна достигают в основном за счет интрузивного роста. Именно в волокнах, по сравнению с другими типами клеток, интрузивный рост наиболее выражен, что придает им уникальность как объекту для исследования роста растительных клеток в целом и интрузивного роста в частности.

Длительное время общепризнанной считали гипотезу концевого интрузивного роста растительных волокон, предложенную K. Esau в середине XX столетия, согласно которой процессы удлинения и формирования вторичной клеточной стенки волокна идут одновременно на протяжении 2-3 месяцев. Однако такое представление о механизмах удлинения растительных волокон не согласовывалось с рядом экспериментальных данных. Биогенез растительных волокон был детально исследован на примере первичных (формирующихся из прокамбия) флоэмных волокон льна (*Linum usitatissimum*) и конопли (*Cannabis sativa*) и вторичных (образующихся в результате деятельности камбия) флоэмных волокон конопли. Установлены продолжительность, маркерные признаки и характер интрузивного роста волокон.

В результате наших исследований показано, что интрузивно растущие первичные флоэмные волокна льна и конопли могут быть идентифицированы уже на расстоянии 1-2 мм от апикальной меристемы стебля. Начало интрузивного роста волокон приводит к резкому увеличению числа волокон в пучке, что хорошо заметно на поперечных срезах стебля. Показано, что интрузивный рост волокон как первичных, так и вторичных всегда осуществляется диффузно, т.е. растяжение клетки идет по всей поверхности, и продолжается в течение нескольких дней. На примере первичных флоэмных волокон льна проведена оценка наличия межклеточных контактов в удлиняющихся волокнах, в результате которой обнаружено, что интрузивно растущие волокна находятся в симпластической изоляции. Установлено, что в ходе интрузивного роста первичных флоэмных волокон льна и конопли резко возрастает число ядер в клетке, которое может достигать полутора сотен, кроме того обнаружена высокая положительная корреляционная зависимость между числом ядер и длиной волокон. Интрузивное удлинение первичных волокон заканчивается в нескольких верхних сантиметрах растущего стебля задолго до начала формирования вторичной и третичной клеточной стенки волокон.

Начало формирования вторичных флоэмных волокон происходит после уже довольно длительного отложения вторичной ксилемы. Результаты наших исследований позволяют утверждать, что лишь небольшая часть веретеновидных инициалей камбия (менее 10%) дает начало вторичным флоэмным волокнам. Интрузивный рост – ключевая детерминанта в формировании пучков вторичных волокон. Во вторичных волокнах, также растущих интрузивно и достигающих значительной длины, установлено наличие только одного ядра.

В настоящее время коллективом соавторов продолжается поиск нетривиальных подходов к исследованию механизмов интрузивного роста. Разработан и успешно используется метод выделения изолированных волокон на стадии интрузивного роста из стебля льна с использованием лазерной микродиссекции. Результаты проведенных исследований будут обобщены в докладе.

Исследования выполнены при частичной финансовой поддержке РФФИ (грант № 15-04-05721).

СОСТОЯНИЕ ВОПРОСА ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ АДАПТАЦИИ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ РОДА *PAEONIA* L. В КУЛЬТУРЕ

State of the problem on ecological adaptation of some species of the genus *Paeonia* L. in culture

Чернышенко О.В.[1], Рудая О.А.[2], Ефимов С В.[2]

[1] Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Московский государственный университет леса, Мытищи, Московская область, Россия; tchernychenko@mgul.ac.ru

2 Ботанический сад биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия efimov-msu@yandex.ru; usuri85@mail.ru

Стратегия сохранения биологического разнообразия рассматривается как стратегия выживания видов и их форм в новых экологических условиях. При этом экологическая среда влияет на живые организмы как нераздельное целое и адаптации вырабатываются у них ко всему комплексу факторов. В настоящее время, особенно в свете глобального изменения климата, достаточно актуальной становится проблема не только изучения адаптации растений к экологическим факторам среды, но и исследование биоморфологии видов, произрастающих в различных экотопах.

В процессе адаптации растения приспосабливаются к новым почвенно-климатическим условиям, агротехническим и биоценотическим факторам, что является составной частью эволюционного развития. Продолжительность и успех адаптационного процесса зависит, в свою очередь, от биологических особенностей вида (способности к различным типам размножения: семенному и вегетативному, разнообразия форм внутривидовой изменчивости), от исходного числа особей при интродукции и степени репрезентативности географических экотипов (Григорьев, 2008).

Одним из интересных модельных объектов для изучения особенностей роста и развития растений в процессе их адаптации к новым условиям среды может служить пион. Монотипный род Пион *(Paeonia* L.) относится к семейству Paeoniaceae и насчитывает 32 вида (APG III, 2009), которые объединяют в 4 подрода и 6 секций, произрастающих преимущественно в умеренных районах Евразии и Северной Америки, а также субтропиках Южной Европы и Северной Африки. Большинство видов высокогорные растения, сумевшие приспособиться в процессе эволюции к жизни в условиях резких колебаний температуры воздуха. Центром видового разнообразия принято считать Китай, где встречается около 10 видов рода Пион. Для исследователей представляют интерес не только экология, но и жизненные формы пионов - поликарпические травы и геоксильные кустарники. Исследованием эколого-морфологических особенностей рода *Paeonia* L. посвящены многие работы, в которых отмечена экологическая пластичность пионов, благодаря которой они могут произрастать в различных климатических зонах. При анализе биологических особенностей представителей рода пион в процессе интродукции решающее значение имеют климатические условия места культивирования. Таким образом, изучение физиологических реакций в условиях неестественных ареалов может представлять интерес для исследователей.

Цель работы заключалась в выявлении особенностей роста и развития растений в процессе их адаптации к климатическим зонам модельных регионов.

В качестве объектов изучения выбраны 2 вида рода *Paeonia* L. - *P. tenuifolia* L. и *P. suffruticosa* Anders, которые были высажены на опытных площадках в четырех зонах умеренно климатического пояса в широтном расположении с севера на юг в пределах Восточно-Европейской равнины: Петрозаводск (61º47´00´´с.ш.), Москва (55º45´06´´), Мичуринск (52º53´32´´), Майкоп (44º37´). Эти зоны характеризуются различным водным режимом и почвенно-климатическими условиями среды. Растения высажены по единой схеме в количестве 5 штук. Изучены жизненная форма, ареалы распространения и экология выбранных видов.

P. tenuifolia относят к корнеклубнеобразующим стержне-кистекорневым травянистым многолетникам (Барыкина, 1979). Ксеромезоморфный вид, произрастает в основном в степных районах Европейской части России на территориях Курской, Белгородской, Ульяновской, Саратовской, Ростовской, Волгоградской областей, Краснодарского и Ставропольского краев, в Северной Осетии, Чечне, Ингушетии, Дагестане, предпочитая открытые места - ковыльно-разнотравные степи, каменистые осыпи, опушки светлых дубовых лесов.

P. suffruticosa - геоксильный кустарник (Барыкина, 1979). Естественный ареал располагается в Юго-Западном Китае, горном лесном поясе, где он адаптировался к холодной зиме и жаркому лету.

Наблюдения первого года показали, что растения проходят стадии индивидуального развития без существенных отклонений, сдвигаются только сроки вегетации. Адаптация растений, по всей вероятности, зависит от комплекса экологических факторов, влияющих на растения, причем эффективность каждого из них в определенный момент может меняться.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СОВРЕМЕННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ ГОРОДСКИХ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ

Application of modern techniques to increase the tolerance of urban trees

Чернышенко О.В., Румянцев Д.Е, Сарапкина Е.В., Кудрявцева Д.С.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Московский государственный университет леса, Мытищи, Московская область, Россия; tchernychenko@mgul.ac.ru;

Агрессивная городская среда негативно сказывается на состоянии древесных растений. Меняется не только внешний облик деревьев, их долголетие, устойчивость к воздействию отрицательных факторов среды, они более подвержены заболеваниям и насекомым-вредителям. Старые деревья еще встречаются в городской черте, но требуют особого дополнительного ухода. В тех случаях, когда речь идет о вероятной скорой неотвратимой гибели дерева, то в качестве альтернативы возможно применение современных технологий, позволяющих спасти дерево. Среди таких методов защиты растений мы выбрали технологию микроинъекций, которая достаточно успешно используется в Европе и Северной Америки, достоверные данные в российской научной литературе отсутствуют.

Теоретически инъекции обеспечивают возможность для проникновения рабочих растворов с фунгицидами, инсектицидами и удобрениями в ксилему и распространение их по стволу дерева, передачу раствора в листья. Линейная скорость восходящего тока колеблется 1-6 м/ч у хвойных и рассеянно-сосудистых древесных видов, до 25-60 м/ч у кольцесосудистых. Скорость передвижения воды по дереву в течение суток меняется соответственно интенсивности транспирации. Наиболее активны в проведении воды последние годичные слои. Путь подъема сока важен в связи с использованием инъекций с микроудобрениями, химическими препаратами для защиты от насекомых и грибов. В дендрарии университета в 2013 г. в начале вегетации мы выбрали древесные растения разного возраста, больные и зараженные насекомыми. Это сосна кедровая сибирская *Pinus sibirica*, конский каштан обыкновенный *Aesculus hippocastanum*, липа мелколистная *Tilia cordata*, ясень пенсильванский *Fraxinus pensilvannica*, вяз гладкий *Ulmus laevis*. Мы использовали инсектициды, фунгициды, микроудобрения, а также микроинъекции комбинированных продуктов, позволяющих при одном введении воздействовать на насекомых (переносчиков или непереносчиков) и грибы, способных со временем негативно повлиять на дерево. При выполнении научно-практических исследований мы попытались ограничить число факторов воздействия на растения, выделили контрольную группу древесных растений, обладающих тем же уровнем развития симптомов заболевания, но не подвергавшимся микроиньекциям. В течение двух лет мы наблюдали за эффективностью роста, физиологическими показателями состояния деревьев, подверженностью заболеваниям и болезням у исследуемых видов. Среди исследованных видов вредителей и болезней ясеневая узкотелая изумрудная златка (*Agrillus planipennis*), орхидский минер (*Cameraria ohridella*), голландская болезнь ильмовых (*Ophiostoma ulmi*), хермес сибирский (*Pineus sibiricus*).

Безусловно, апробация технологий лечения с применением микроинъекций еще идет. Нельзя считать этот способ универсально наилучшим методом, одинаково хорошо подходящим для лечения всех видов заболеваний древесных растений. Его применение имеет под собой теоретические основания, но данные о практической эффективности метода (также как и о его неэффективности при конкретно заданных условиях) могут быть накоплены только опытным путем. В настоящее время лечение ран и дупел, обрезка ветвей и раковых язв, крепление стволов и крон у деревьев стали нормой в практике ухода за деревьями. Современные методы инъекций, связанные, с введением в дерево лечебных препаратов, технологии которых применяются за рубежом более 60 лет, требуют апробации в наших условиях. Если апробация на практике пройдет успешно, то использование современных технологий будет возможно для терапевтического лечения древесных растений и повышения их устойчивости.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ФОТОХИМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ХЛОРОПЛАСТОВ С АПОПЛАСТНОЙ ИНВЕРТАЗОЙ И УСТЬИЧНЫМ АППАРАТОМ ЛИСТА ПРИ РЕГУЛЯЦИИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО ПОТОКА УГЛЕРОДА

Interaction of photochemical processes in the chloroplast with apoplastic invertase and stomatal apparatus, in the regulation of photosynthetic carbon flow in plants

Чиков В.И.

Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань, Россия; vichikov@bk.ru.

Исследования фотосинтеза растений, у которых ген апопластной инвертазы блокирован с помощью РНК-интерференции показали, что активность этого фермента влияет на функцию замыкающих клеток устьиц. У опытных растений было обнаружено необычное изменение устьичной проводимости листа в ответ на снижение освещенности. При уменьшении освещенности в два раза у растений дикого типа интенсивность фотосинтеза и транспирации (как обычно) синхронно снижались, а у растений-трансформантов фотосинтез снижался, но в меньшей степени, а транспирация повышалась. Исследования фотосинтетического метаболизма ^{14}C-углерода показало, что при снижении образования НАДФН (уменьшение освещенности в два раза) происходит сокращение потока углерода по гликолатному пути в соответствие со снижением освещенности. Этот эффект не зависел от того, адаптированы растения (5 суток) к понижению освещенности или нет (30 мин). Эквивалентное освещенности изменение включения ^{14}C в гликолатный путь означало наличие прямой связи образования гликолата с интенсивностью фотохимических процессов. Углерод продуктов гликолатного пути в этом случае возвращался в цикл Кальвина в меньшей степени. Избыток этих соединений (глицин и серин) в цитоплазме метаболизировал по невосстановительному пути превращаясь в малат, аспартат и аланин. Это особенно было выражено у неадаптированных растений. Образовавшиеся кислоты, по-видимому, снижают pH как в цитозоле, так и в апопласте листа, т.к. происходит активация апопластной инвертазы и усиление гидролиза сахарозы (снижение отношения меченых ^{14}C сахароза/гексозы). Степень снижения индекса сахароза/гексозы увеличивалась с уменьшением интервала от момента снижения освещенности. Это означало, что активность апопластной инвертазы также находится в обратной зависимости от активности фотохимических процессов в хлоропластах. Усиление гидролиза сахарозы в апопласте повышает осмотичность водной среды, так как вместо одной моли сахарозы образуется две гексоз, при этом она возрастает с приближением к устьичной полости, где происходит главное испарение воды. Интенсификация испарения воды при включении света приводит даже к уменьшению толщины клеточных стенок в мезофилле. Увеличение осмотичности жидкости (в апопласте замыкающих клеток) способствует потери ими тургора, повышению сопротивления диффузии CO_2 в лист и снижению фотосинтеза. Одновременно, гидролиз сахарозы в апопласте препятствует ее экспорту из листа. Таким образом, приведенные экспериментальные данные свидетельствуют о существовании регуляторной связи между потоком электронов в электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) хлоропластов, степенью замыкания гликолатного пути на цикл Кальвина, активностью инвертазы в апопласте, экспортом сахаров из листа и устьичной проводимостью. Развитие событий при снижении освещенности может быть представлено в следующей последовательности.

1) Снижение освещенности уменьшается количество образующегося НАДФН, что ограничивает восстановление ФГК. Мощный поток углерода продуктов гликолатного метаболизма (который составляет около половины фотосинтеза) из-за невозможности восстановления ФГК преобразуется в большое количество органических кислот, которые снижают pH в апопласте и способствуют активации инвертазы.

2) Усиливается гидролиз сахарозы, сокращается ее экспорт, а осмотичность апопластной жидкости возрастает, что способствует закрыванию устьиц, снижению диффузии CO_2 в лист и подавлению фотосинтеза.

Наоборот, при возрастании освещенности, избыточное количество образовавшейся НАДФН, усиливает синтез сахаров и снижает концентрацию кислот. Это приводит к подщелачиванию внеклеточной среды и инактивации инвертазы, что способствует успешному экспорту сахарозы и снижению осмотичности апопластной жидкости. Последнее дополнительно открывает устьица, повышает диффузию CO_2 в лист и, как следствие, скорость фотосинтеза.

В случае повышения уровня нитратов в листе или нарушения донорно-акцепторных отношений между фотосинтезирующими и потребляющими ассимиляты органами срабатывают те же механизмы, но их триггером является конкуренция нитрит-иона с $НАДФ^+$ за поток электронов в ЭТЦ хлоропластов. С повышением концентрации нитратов в мезофилле уменьшается образование НАДФН, повышается количество радикалов для транскетолазного механизма образования гликолата и усиливается неуглеводная направленность фотосинтеза.

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА ЦИРКОН НА ПРОРАСТАНИЕ СЕМЯН ГОРОХА СОРТА МАДОННА

The effect of Zircon on seed germination of pea var. Madonna

Чмелева С.И., Кучер Е.Н., Брановицкая Т.Ю.

Таврическая Академия Федерального государственного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
schmeleva@mail.ua

В настоящее время большое внимание в физиологии растений уделяется аспектам использования синтетических регуляторов роста, обладающих большим спектром физиологического действия на растение. Большинство используемых препаратов являются аналогами эндогенных фитогормонов. При этом, будучи естественными соединениями, они непосредственно включаются в метаболизм растений, не оказывая вредного влияния на почву и окружающую среду. К таким регуляторам роста относится препарат нового поколения циркон. Его действующим веществом служит смесь гидроксикоричных кислот (ГКК), получаемых из растительного сырья эхинацеи пурпурной (*Ehinacea purpurea* L.).

Циркон – препарат широкого спектра биологического действия, рекомендован для обработки различных сельскохозяйственных культур. Производитель препарата рекомендует для обработки семян концентрации препарата без учета культуры и ее сортовых особенностей, поэтому на первом этапе исследований необходимо определить оптимальную дозу препарата, использование которой дает максимальный эффект на начальных этапах онтогенеза.

С целью изучения влияния препарата Циркон на прорастание семян гороха (*Pisum sativum* L., сорт Мадонна), подготовленные семена раскладывали по 100 штук в кюветы на фильтровальную бумагу, смоченную растворами изучаемого регулятора роста согласно схеме опыта. В каждую кювету приливали по 300 мл рабочего раствора с различной концентрацией исследуемого препарата (0,025; 0,05; 0,075 и 0,1% -ные растворы). Контролем служили семена, помещенные в кювету с отстоянной водопроводной водой. Семена проращивали в термостате типа ТС-80М-2 в темноте при температуре 20°С. Энергия прорастания и всхожесть семян определялись согласно ГОСТ 12038-84.

Для оценки воздействия препарата Циркон на морфометрические показатели растений кукурузы проростки переносили на водную культуру (среда Кнопа). Растения выращивали при естественном освещении в вегетационных сосудах емкостью 1 л. Температура поддерживалась в пределах 24-25°С. Физиологические эксперименты проводили по общепринятым в физиологии растений методам. Измеряли высоту растений, длину корней, массу сырого и сухого вещества у 7-, 14- и 21-дневных растений, выращенных в водной культуре при естественном освещении.

Исследования показали, что предпосевная обработка семян регулятором роста Циркон вызывает положительные изменения в метаболических процессах, вызывает стимуляцию физиологических процессов в прорастающих семенах и развивающихся из них растениях. Установлено, что предпосевная обработка Цирконом стимулирует ростовые процессы кукурузы уже на ранних этапах онтогенеза. Данный эффект зависит от концентрации действующего вещества и сохраняется на протяжении всего эксперимента. Наилучшие результаты были получены при обработке семян раствором исследуемого препарата в концентрации 0,075%. Показано стимулирующее влияние регулятора роста в указанной концентрации на энергию прорастания, лабораторную всхожесть семян, а также на показатели роста растений кукурузы (площадь листовой поверхности, массу сырого и сухого вещества надземной части и корней).

На основании проведенных исследований можно рекомендовать к использованию изучаемого биологически активного соединения в предпосевной обработке семян гороха. Предварительное замачивание семян в растворах будет способствовать повышению их посевных качеств.

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА МИВАЛ-АГРО НА РОСТОВЫЕ ПРОЦЕССЫ ЯЧМЕНЯ НА РАННИХ ЭТАПАХ ОНТОГЕНЕЗА В УСЛОВИЯХ ПОНИЖЕННОЙ ПОЧВЕННОЙ ВЛАЖНОСТИ

The effect of Miwal-Agro on the early barley growth under soil water deficit

Чмелева С.И., Ситник М.И.

Таврическая Академия Федерального государственного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
schmeleva@mail.ua

В настоящее время в условиях Республики Крым актуальной является проблема устойчивости культурных растений к недостатку водообеспечения.

Засуха относится к наиболее распространенным неблагоприятным абиотическим факторам среды, с которыми растения сталкиваются на протяжении онтогенеза.

В последние годы в сельскохозяйственной практике широко применяются многочисленные регуляторы роста растений, использование которых направлено как на увеличение урожая, так и на повышение устойчивости растений к экстремальным условиям окружающей среды. Современные полифункциональные регуляторы роста способны одновременно стимулировать рост, развитие и физиологические процессы растений, а также повышать их способность адаптироваться к неблагоприятным факторам среды.

К перспективным в использовании и экологически безопасным комплексным препаратам относится Мивал-Агро. Он представляет собой кремнийорганическое соединение, состоящее из двух биологически активных соединений: 1-хлорметилсалатран и триэтаноламмониевая соль ортокрезоксиуксусной кислоты. Воздействуя на гормональную систему растений, препарат позволяет снизить стрессовую нагрузку, уменьшить количество пестицидных обработок и повысить урожайность выращиваемой культуры.

Целью наших исследований явилось изучение влияния препарата Мивал-Агро на ростовые процессы ячменя на ранних этапах онтогенеза в условиях пониженной почвенной влажности.

Объектом исследования были семена и растения ячменя (*Hordeum vulgare* L., сорта Сталкер). Для изучения влияния 0,005; 0,01; 0,025; 0,05 и 0,075%-ных растворов препарата Мивал-Агро применяли предпосевную обработку семян в течение 6 часов, контролем служила отстоянная водопроводная вода.

В качестве морфометрических показателей исследовались: высота растений, длина корневой системы, площадь листовой пластинки, масса сырого и сухого вещества у 7-, 14- и 21-дневных растений, выращенных в вегетационных сосудах емкостью 2 кг, при естественном освещении. Растения выращивали в лабораторных условиях при температуре от 22 до 24°С в течение 3 недель при двух уровнях влажности почвы: оптимального – 70% от полной влагоемкости (ПВ) и засушливого – 30%. Соответственно использовано два контрольных варианта: контроль 1 – семена замачивали в отстоянной водопроводной воде и высевали в субстрат с оптимальным увлажнением; контроль 2 – семена замачивали в отстоянной водопроводной воде и высевали в субстрат с низким уровнем влажности. Влажность почвы периодически определяли и поддерживали на заданном уровне до конца эксперимента. Для определения массы сырого и сухого вещества растений ячменя сорта Сталкер отбирали 5 параллельных проб по 10 типичных и однородных экземпляра. Время между отборами 7 дней. Водный дефицит определяли по Н.Н. Третьякову, накопление пролина в листьях – спектрофотометрическим методом.

В результате наших исследований было установлено, что предпосевная обработка препаратом Мивал-Агро повышает засухоустойчивость ячменя, при этом возрастает всхожесть семян, увеличиваются значения морфометрических параметров проростков. Данный эффект зависит от концентрации действующего вещества и сохраняется на протяжении всего эксперимента. Наилучшие результаты были получены нами при замачивании семян ячменя в растворе исследуемого препарата 0,050%-ной концентрации.

Установлено, что в условиях пониженной почвенной влажности под действием препарата Мивал-Агро увеличивается высота растений – в 1,4 раза, длина корневой системы – в 1,3 раза, площадь листовой поверхности – в 1,3 раза, масса сырого вещества и сухого вещества в 1,3 раза - у опытных растений, по сравнению с контрольными. Показано, что препарат Мивал-Агро в условиях пониженной почвенной влажности оказывает стимулирующее действие на накопление пролина и снижение водного дефицита в 2,9-4,4 раза в листьях ячменя у опытных растений по сравнению с контролем.

Полученные результаты подтвердили перспективность использования препарата Мивал-Агро для предпосевной обработки различных зерновых культур.

РАЗРАБОТКА СИСТЕМЫ ПРОДУКЦИИ ГЕТЕРОЛОГИЧНЫХ БЕЛКОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КУЛЬТУРЫ БОРОДАТЫХ КОРНЕЙ ТАБАКА

Development of production system of heterological proteins with use of *Nicotiana tabacum* hairy roots culture

Чубукова О.В., Баймиев Ан.Х., Баймиев Ал.Х.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа, Республика Башкортостан, Россия; chubukova@bk.ru

Бородатые корни образуются в результате заражения растения почвенными бактериями *Agrobacterium rhizogenes*, переносящими так называемую Т-ДНК в растительный геном. Такие генетически трансформированные образования способны к длительному, в течение нескольких лет, росту в культуре *in vitro* без добавления гормонов. При этом бородатые корни способны аккумулировать на том же или даже большем уровне метаболиты, что и исходное растение. За последние десятилетия культуры бородатых корней различных растений широко используются в качестве источника получения экономически ценных вторичных метаболитов, применяемых, в дальнейшем в косметической, пищевой, фармацевтической промышленностях. Кроме того, культура трансгенных бородатых корней может быть использована для наработки белков, в норме являющихся чужеродными для данного растения.

В работе нами использовался бинарный вектор pCambia 1301 "Cambia", (Австралия), содержащий в области Т-ДНК репортерный ген *GUS* и ген устойчивости к гигромицину. Для удобства клонирования в pCambia 1301 по сайту *Sma*I была вставлена 35S кассета, состоящая из 35S промотора, полилинкера и 35S polyA последовательности. В Т-ДНК вектора под контролем 35S промотора были клонированы в одной рамке считывания последовательность, кодирующая сигнальный пептид лектина гороха посевного и ген зеленого флуоресцентного белка (*GFP*), амплифицированого из вектора pTurboGFP. Полученная генетическая конструкция была перенесена из *E. coli* XLBlue в клетки *A. rhizogenes* 15834, которые далее были использованы для трансформации листовых пластинок табака *Nicotiana tabacum* сорта SR-1. После достижения бородатыми корням длины 3–4 см проводили их гистохимический анализ на GUS активность и ПЦР анализ ДНК на наличие гена *GFP*. В случае положительного результата бородатый корень пересаживали в жидкую среду MS с антибиотиками для селекции и выращивали в течение нескольких недель. Уровень экспрессии секретируемого GFP в культуральной жидкости оценивали методом флюориметрии. Однако, детектируемого уровня искомого белка обнаружить не удалось. При этом, Вестерн-блот-анализ суммарного белка из бородатых корней, трансгенных по гену *GFP* с использованием антиполи-GFP антител подтвердил присутствие искомого протеина. Таким образом, в полученной культуре бородатых корней, трансгенных по гену GFP искомый белок, вероятно, в небольших количествах накапливался в корнях, однако не секретировался наружу. В дальнейшем, для получения системы продукции секретируемых белков нами предполагается использовать различные последовательности сигнальных пептидов и получить культуру бородатых корней на растении, который может обеспечить высокий уровень экспрессии рекомбинантного белка.

ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ АППАРАТ РАСТЕНИЙ ТЕХНОГЕННО НАРУШЕННЫХ МЕСТООБИТАНИЙ

Photosynthetic apparatus of plants from man-made disturbed habitats

Чукина Н.В., Шарнина Т.Ф., Шаихова Д.Р., Ситников И.А., Киселева И.С.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н.Ельцина», Екатеринбург, Россия; nady_dicusar@mail.ru

В связи с увеличивающими темпами развития промышленности площади нарушенных территорий с каждым годом неуклонно растут. Поэтому все большую актуальность приобретает исследование механизмов устойчивости растений к загрязнению среды обитания. Эти исследования важны как с теоретической, так и практической точек зрения. Эти знания востребованы для разработки технологии фиторемедиации и рекультивации техногенных территорий.

Фотосинтетический аппарат растений является весьма чувствительным к неблагоприятным воздействиям. В связи этим задачей настоящего исследования было изучение особенностей фотосинтетического аппарата листа растений в условиях аэротехногенного воздействия.

Район исследования – территория, прилегающая к Карабашскому медеплавильному комбинату (КМК). Более чем столетняя работа данного комбината привела к серьезной деградации растительного и почвенного покрова на прилегающих к КМК территориях (г. Золотая). На ее склонах сформировалась техногенная пустошь. Верхние слои почв замещены техногенными образованиями из эрозионных наносов. Основные источники загрязнений, связанные с медеплавильным производством: SO_2, который является источником кислотного загрязнения, пылевые выбросы, содержащие большое количество тяжелых металлов (Cu, Pb, Cd, Zn, Fe, As др.), металлургические шлаки и отвалы вскрышных пород (Белогуб и др., 2003). Зона импакта занимает около 35 км^2. В соответствии с розой ветров выбранный район исследования наиболее подвержен атмосферному воздействию. Максимальное содержание водорастворимых форм Zn, Cu, Pb, Cd в почвах импактного участка превышает фоновые уровни в 11–38 раз. В качестве относительного контроля (фоновая зона) рассматривали территорию Ильменского заповедника, расположенную в 50 км от КМК.

Изучена структура мезофилла листа 5 видов растений: *Scorzonera glabra* Rupr., *Sanguisorba officinalis* L., *Silene amoena* L., *Seseli libanotis* (L.) Koch., *Artemisia latifolia* Ledeb. Для исследования отбирались 5–10 листьев среднего яруса с 5–10 особей каждого вида растений из импактного и фонового участков. Использовали растения в фазе цветения-бутонизации. Параметры мезоструктуры листа изучали согласно методике А.Т. Мокроносова (Мокроносов, 1978; Иванова, 2009).

Были проанализированы следующие параметры мезоструктуры: толщина листа, толщина мезофилла и эпидермиса, количество клеток и хлоропластов в единице площади листа, объем клеток и хлоропластов, индексы мембран клеток и хлоропластов, содержание фотосинтетических пигментов. Показано изменение структурно-функциональных характеристик фотосинтетического аппарата изученных видов растений в условиях высокого антропогенного воздействия. Обнаружено, что толщина листовой пластинки и толщина мезофилла у большинства исследованных растений с импактного участка были достоверно выше. В ряде случаев эта закономерность объяснялась значительным увеличением числа клеток мезофилла в расчете на единицу площади листа. Для *Silene amoena*, *Seseli libanotis* и *Artemisia latifolia* доля мезофилла листа в условиях антропогенного воздействия повышался за счет увеличения размеров клеток губчатой и столбчатой паренхимы.

Имеющиеся литературные данные также указывают, что антропогенные воздействия приводят к сходным изменениям в структуре фотосинтетического аппарата растений (Хан, Астафурова, 2001; Улицкая, 2004; Фазлиева, Киселева, 2013). При этом отмечается, что в условиях техногенного стресса изменению подвергается и пигментный аппарат растений. Наши исследования показали, что растения с импактной и фоновой зоны достоверно различались по содержанию фотосинтетических пигментов в листьях. Однако характер этих различий был видоспецифичен.

Таким образом, у растений в условиях высокого антропогенного воздействия отмечены структурно-функциональные перестройки фотосинтетического аппарата листа. Изменение параметров мезоструктуры рассматривается как существенное проявление регуляции фотосинтеза на морфогенетическом уровне, которое обеспечивает оптимизацию процессов роста и развития, а также адаптацию растений в различных экологических условиях.

Работа выполнена при поддержке Программы повышения конкурентоспособности Уральского федерального университета им. первого Президента России Б.Н. Ельцина.

ВЛИЯНИЕ ФИТОПАТОГЕНОВ НА АНТИОКСИДАНТНУЮ АКТИВНОСТЬ И ГАЗООБМЕН РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ

Effect of plant pathogens on antioxidant activity and gas exchange in wheat plants

Шаймуллина Г.Х., Грошева Е.А., Невмержицкая Ю.Ю., Тимофеева О.А.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Республика Татарстан, Россия
gulnazshajmullina@yandex.ru

Материалом исследований служили корни и листья 7-суточных проростков пшеницы *Triticum aestivum L.* сорта Омская 33. Обработанные 70% этанолом семена промывали стерильной водой и в течение суток инокулировали в суспензии спор патогенов ($1 \cdot 10^4$ КОЕ/см^3). Проростки выращивали на водопроводной воде. Грибы *Aspergillus niger* и *Fusarium oxysporum* Schlectend.:Fr. были выделены из семян пшеницы, районированных для Республики Татарстан сортов и селекционных линий. Изучение газообмена и параметров водного режима проводили на листьях проростков с помощью портативного газоанализатора GFS – 3000 (Walz, Германия).

В результате проведенных исследований установлено, что *F. oxysporum* вызывает окислительный взрыв в клетках корней проростков пшеницы, в тушении которого принимают участие пероксидазы. Пероксидазы стимулируют процессы лигнификации и суберинизации клеточных стенок в процессе патогенеза, что может являться одним из механизмов защиты от специфических патогенов. В ответ на заражение неспецифическим инфекционным микромицетом *A. niger* в клетках корней пшеницы не изменялось содержание продуктов ПОЛ, активировалась каталаза и аскорбатпероксидаза.

Интенсивность транспирации инфицированных растений была ниже уровня контрольных. Исследование интенсивности ассимиляции CO_2 показало, что оба возбудителя грибных заболеваний ингибировали процесс фотосинтеза: *A. niger* – на 17%, *F. oxysporum* – на 32%. Это согласуется с данными, что при взаимосвязи растение – патоген происходит значительное снижение интенсивности фотосинтеза, связанное с нарушениями в пигментном аппарате, оттоком ассимилянтов из листьев и т.д.

Поведенные исследования позволяют сделать вывод о том, что в зависимости от специализации фитопатогена растения активируют различные сигнальные системы, необходимые для формирования защитных реакций.

ВЛИЯНИЕ АБК НА УРОВЕНЬ АКВАПОРИНОВ И ГИДРАВЛИЧЕСКУЮ ПРОВОДИМОСТЬ РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ

Effect of ABA on the aquaporins level and hydraulic conductivity of barley plants

Шарипова Г.В.[1], Веселов Д.С.[1], Анохина Н.Л.[1], Веселова С.В.[2]

[1] *Уфимский институт биологии РАН, Уфа, Россия; g.v.sharipova@mail.ru*

[2] *Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Уфа, Россия; veselova75@rambler.ru*

Немало работ было посвящено влиянию АБК на гидравлическую проводимость (ГП) растений. В значительной части публикаций была показана способность этого гормона повышать проводимость тканей растений для воды. С открытием аквапоринов, это свойство АБК стали объяснять влиянием данного гормона на экспрессию генов, кодирующих водные каналы, и активность кодируемых ими белков. Вместе с тем, данные на этот счет неоднозначны. Для растений кукурузы была показана корреляция между генетически детерминированным уровнем АБК и экспрессией генов водных каналов из семейства аквапоринов клеточных мембран (PIP). Представляло интерес оценить влияние уровня АБК на ГП и PIP аквапорины ячменя. Интерес к растениям этого вида определяется тем, что для них характерен более высокий, по сравнению с растениями кукурузы, вклад транспорта воды через клетки в общий поток воды по растению. Между тем, в литературе, насколько нам известно, нет данных о влиянии этого гормона на аквапорины ячменя.

Объектом исследования были 7-сут. растения дефицитного по АБК мутанта ячменя AZ34 (*Hordeum vulgare* L.) и его исходной формы сорт Steptoe, выращенные в гидропонической культуре. ГП (L) рассчитывали по формуле L= F/Posm, где F - поток ксилемного сока из отделенных корней, а Posm разница между осмотическим потенциалом ксилемного сока и питательного раствора. Иммуногистохимическую локализацию АБК и аквапоринов выявляли на срезах зоны поглощения корней, после фиксации тканей водорастворимым карбодиимидом и формальдегидом, дегидратации и заключения в метакрилатную смолу. Поликлональные антитела были получены путем иммунизации кроликов синтетическим олигопептидом (Medial & Biological Laboratories Co., Japan), соответствующим последовательностям аминокислот в N-концевой области HvPIP2;1, HvPIP2;2 HvPIP2;5, а также конъюгатом АБК с белком носителем. Связывание антител с клеточными структурами выявляли с помощью вторых антител против иммуноглобулинов кролика, меченных коллоидным золотом, и препаратом «серебряного усилителя». Аутофлуоресценцию лигнина и суберина на срезах корней выявляли с помощью конфокального лазерного микроскопа (CLSM) LSM-510 на базе инвертированного микроскопа («Carl Zeiss», Germany). Использовали аргоновый лазер 30 мВ для возбуждения аутофлуоресценции при 488 нм, дихроичное зеркало (490 нм) и фильтры с полосой пропускания выше 505 нм.

Иммунное окрашивание на АБК клеток поперечного среза корней было значительно меньшим у дефицитного по АБК мутанта, чего и следовало ожидать. При использовании неиммунной сыворотки наблюдалось слабое окрашивание контуров клеток на срезах корней. При ее замене на сыворотки к аквапоринам выявлялось почернение границ клеток, что соответствует расположению PIP аквапоринов в клеточных мембранах и подтверждает специфичность окрашивания. Ее интенсивность была наиболее низкой при использовании сыворотки к HvPIP2;5 аквапоринам, и одинаковой у обоих генотипов независимо от типа антител к аквапоринам. Эти результаты противоречили результатам оценки гидравлической проводимости, которая была выше у растений исходного генотипа. Более низкую ГП дефицитного по АБК мутанта можно было объяснить тем, что у растений этого генотипа формирование поясков Каспари в области эндодермы было обнаружено ближе к кончику корня, чем у растений Steptoe, что могло снижать проницаемость апопластного транспорта воды. Это предположение соответствует данным литературы о способности АБК подавлять отложение лигнина. Вместе с тем, Fricke с соавт. в 2010 г. показали низкий вклад апопластного пути в транспорт воды у растений ячменя. Тем не менее, изученные нами генотипы могли отличаться от описанных в литературе, поскольку у изученных нами растений корневые волоски были обнаружены близко к кончику корня, где еще не было отложения лигнина и суберина. Такое расположение зоны всасывания в области, где еще не сформированы пояски Каспари, указывает на возможную значительную роль апопластного пути. Т.о., снижение ГП у дефицитного по АБК мутанта могло быть связано с ускорением отложения в апопласте непроницаемых для воды веществ. Для того чтобы выявить возможное прямое влияние АБК на аквапорины, мы ввели этот гормон в питательную среду растений AZ34 за 20 мин до начала сбора ксилемного сока и за 1,5 ч до фиксации срезов корней. Обработка растений гормоном повышала иммунное окрашивание срезов корней на АБК, что подтверждало специфичность окрашивания. При этом также возрастало окрашивание на HvPIP2;1 и HvPIP2;2, но не HvPIP2;5 аквапорины и параллельно увеличивалась ГП корней. При обработке корней реактивом Фентона, обеспечивающим ингибирование аквапоринов образующимися активными формами кислорода, разница между обработанными и необработанными абсцизовой кислотой корнями по ГП нивелировалась, что подтверждает роль аквапоринов.

Таким образом, АБК увеличивает уровень аквапоринов в кратковременных экспериментах, в то время как продолжительный дефицит АБК снижает гидравлическую проводимость, ускоряя отложения лигнина и создавая апопластные барьеры.

Работа выполнена при частичной поддержке гранта РФФИ №14-04-97077.

ВЛИЯЕТ ЛИ КРАСНЫЙ СВЕТ НА УСТОЙЧИВОСТЬ КЛУБНЕКОРНЕЙ ГЕОРГИНЫ К ГРИБНОЙ ИНФЕКЦИИ?

Does the red light influence the resistance of dahlia tuberous roots to fungal infection?

Шатило В.И., Кондратьева В.В, Воронкова Т.В., Шелепова О.В., Олехнович Л.С.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН, Москва, Россия; lab-physiol@mail.ru

Георгина поражается комплексом грибных болезней, возбудители которых сохраняются в клубнекорнях при хранении. К ним относятся серая гниль (возбудитель – *Botrytis cinerea* Pers.), склеротиниозили белая гниль (возбудитель – *Sclerotinia sclerociorum* (Lib.) de Bary), фузариозное увядание (возбудитель – *Fusarium oxysporum* Schlecht.), вертициллезное увядание (возбудитель – *Verticillium dahlia* Kleb.), бурая гниль (возбудитель – *Rhizoctonia solani* Kuhn.).

Изучали влияние красного спектрального света (КС max 660 нм) на устойчивость клубнекорней георгины к грибной инфекции. Использовали светодиодные лампы «Фокус» (Россия) модели ПС-2 (УСС-12). Перед переносом растений из клубнехранилища в оранжерею, в течение трех недель, клубнекорни с почками возобновления, находящиеся в темной камере при температуре 8-10°С и влажности 80%, досвечивали импульсным КС 20 часов в сутки по 15 мин в час. Контроль – клубнекорни, хранившиеся в тех же условиях без досветки. После завершения воздействия КС все растения помещали в сосуды с почвой и переносили в оранжерею (температура 18-20°С, влажность 70%) для прорастания. Материалом служили сорта Lilaste Serine и Shirley Yane из коллекции ГБС РАН. Определяли уровень салициловой кислоты (СК) в мкг/г сухого веса, моносахаров (в весовых процентах) в тканях клубнекорней после завершения воздействия КС и суммарный процент пораженных побегов после их отрастания в оранжерее.

Показано, что исходное содержание СК было практически одинаковым для обоих сортов: 0,22 мкг в корнеклубнях «Lilaste Serine» и 0,23 мкг в корнеклубнях «Shirley Yane». По окончании периода темнового хранения уровень СК возрос у обоих сортов, достигнув 0,58 мкг у «Lilaste Serine» и 0,88 мкг у«Shirley Yane», что указывает на окончание периода покоя и активные метаболические изменения, связанные с подготовкой к росту. Реакция на импульсную досветку КС была однотипной у обоих сортов - снижение уровня СК. Содержание этого фенола в клубнекорнях «Lilaste Serine» составило 0,14 мкг, что соответствует всего 24% от контрольного варианта, а в клубнекорнях «Shirley Yane» 0,32 мкг, что соответствует 37% от контроля. Уровень моносахаров, связанный с интенсивностью дыхания, в тканях клубнекорней у обоих сортов снизился и в контрольном, и в опытном вариантах по сравнению с исходным содержанием после трех недель досветки КС. Через месяц по окончании воздействия импульсным КС проводили первый учет зараженных побегов после отрастания в условиях оранжереи, еще через неделю проведен повторный учет подобных побегов.

По итогам первого учета между вариантами практически не было различий по проценту пораженных побегов у обоих сортов. После второго учета проявилась разница между контролем и вариантом с досветкой КС, которая положительно повлияла на устойчивость растений сорта Lilaste Serine, снижая почти на треть число побегов, пораженных комплексом грибных болезней. У сорта Shirley Yane действие КС увеличило число пораженных молодых побегов из почек возобновления.

Таким образом, импульсное воздействие КС с целью индукции противогрибной устойчивости на клубнекорни георгины является сортоспецифичным.

КЛЕТОЧНАЯ СЕЛЕКЦИЯ РАСТЕНИЙ КЛЕВЕРА (*TRIFOLIUM REPENS* L.) НА УСТОЙЧИВОСТЬ К ВЫСОКИМ ДОЗАМ ИОНОВ МЕДИ

Breeding clover (*Trifolium repens* L.) for toleramce to high copper ions concentration

Шатунова С.А., Ермошин А.А.

Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия
shatunova.sa@gmail.com

Техногенное воздействие крупных промышленных центров привело к значительному накоплению тяжелых металлов в почвах. Уровень загрязнения почв в Свердловской области относят к опасному и умеренно опасному. В отличие от воздуха и воды, самоочищение почв происходит намного медленнее, что вызывает сложность для их хозяйственного использования. Одним из возможных решений этой проблемы является фиторемедиация почв с использованием растений-гипераккумуляторов.

Цель данной работы - получение растений-гиперраккумуляторов, устойчивых к высоким дозам ионов меди.

Объектом исследования был выбран клевер ползучий, так как он широко распространен в зоне умеренного климата, является отличным кормовым растением,устойчивым к вытаптыванию, быстро отрастает и обладают высокой медопродуктивностью. Кроме того, клевер улучшает качество почв, обогащая их азотом.

Для достижения цели была использована клеточная селекция. Ранее была применена ступенчатая селекция: изначально каллус индуцировали на среде, не содержащей токсикант. Образованный каллус переносился на среду с токсикантом. Последующие пассивирования проводились с повышением концентрации ионов меди со 100 до 300 мкМ/л. Для поддержания каллуса использовали высокие дозы 2,4-Д. При такой постановке опыта каллусы быстро теряли морфогенность.

Предложена другая схема опыта. Индукцию каллуса сразу проводили на среде, содержащей ионы меди. В первом пассаже брали среду МС с 3% сахарозы и 2,4-Д в концентрации 2 мг/л, КИН – 2 мг/л, НУК – 0,5 мг/л и концентрациями ионов меди 75 мкМ и 125 мкМ. Через 4 недели жизнеспособные листовые и черешковые экспланты (69% живых эксплантовна среде с содержанием ионов меди 75 мкМ и 31% живых эксплантов на среде с содержанием ионов меди 125 мкМ) были перенесены на среду с повышенным содержанием ионов меди: 125 мкМ и 200 мкМ соответственно.Полученные устойчиво растущие каллусы перенесены в третьем пассаже на 200 и 300 мкМ/л ионов меди соответственно. Часть каллусов мы продолжаем пассивировать на прежней среде для каллусогенеза, вторую часть перенесли на среду для регенерации, содержащую БАП – 4 мг/л, КИН – 1 мг/л, НУК – 0,05 мг/л и перенесли на свет.

В дальнейшем мы планируем получить растения клевера и изучить физиологические и генетические механизмы их устойчивости к высоким дозам тяжелых металлов и возможность формирования перекрестной устойчивости к другим стрессорам.

Работа выполнена при поддержке ППК УрФУ.

НАЧАЛЬНЫЕ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ХЛОРОПЛАСТОВ РАСТЕНИЙ ГОРОХА ПРИ ДЕЙСТВИИ ВЫСОКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ

Initial structural and functional changes in the chloroplasts of pea plants under heat stress

Шевченко В.В., Бондаренко О.Ю.

Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины, Киев, Украина
smk_off@mail.ru

Фотосинтетический аппарат высших растений является достаточно чувствительным к воздействию высоких температур (Berry, Byőrkman, 1980). При этом исследователями рассматриваются преимущественно молекулярные механизмы его чувствительности и устойчивости к стрессу (Креславский и др., 2008). Имеются лишь отрывочные сведения об изменениях протяженности и ультраструктуры фотосинтетических мембран при воздействии высоких температур (Буболо и др., 1993; Кислюк и др., 1997; Шаркова и др., 1996). В стратегии адаптации фотосинтетического аппарата к стрессам считается, что на начальном этапе происходит продуцирование активных форм кислорода, изменение электронного транспорта и развитие нефотохимического тушения. На значительно большем временном отрезке воздействия неблагоприятного фактора начинаются изменения, затрагивающие регуляцию на уровне генетического аппарата, приводящую к неосинтезу протеинов и пигментов, изменению соотношения ФС1/ФС2 и др. (Eberhard, 2008). Нашими предыдущими исследованиями показано, что уже 5-ти минутный прогрев при 45°С приводит к изменению размеров хлоропластов (Кочубей и др., 2008), в основе которого лежит перестройка мембранной системы хлоропластов с формированием многотилакоидных гран (Бондаренко, Шевченко, 2012). В данной работе рассматриваются изменения ультраструктуры хлоропластов параллельно с изменениями фотосинтетической активности на временном отрезке от 5 до 40 минут прогрева.

Для исследований использованы двухнедельные растения гороха, которые выращивались при температуре 18°С и освещенности 16 клк. Прогрев целых растений проводили в термостате при температуре 45°С и той же освещенности. Листья верхнего яруса отбирались для исследований через 5, 10, 20 и 40 минут прогрева. Листья с контрольных и обработанных растений выдерживали в темноте при комнатной температуре 20 мин, после чего проводили запись кривых индукции флуоресценции хлорофилла и фиксацию для электронно-микроскопических исследований.

Исследование динамики изменений функциональной активности фотосинтетического аппарата растений гороха, вызываемых высокотемпературным стрессом по параметру Fv/Fm, показало, что 5-ти минутный прогрев растений гороха при 45°С вызывает падение фотохимической активности почти до нулевого уровня. Существенно уменьшается скорость накопления окисленных реакционных центров фотосистемы 2. После 10-ти минутного прогрева наблюдается незначительное повышение активности, а пролонгация прогрева до 20 мин обусловливает восстановление этих параметров почти до уровня контроля. И только после 40-ка минутного прогрева снова наблюдается незначительное снижение фотосинтетической активности.

Электронно-микроскопические исследования показали немонотонное изменение площади сечения хлоропластов. Через первые 5 мин прогрева площадь уменьшается, а далее начинает увеличиваться, а после 20 мин становится несколько больше, чем у контрольных растений. Также, после первых 5-ти минут прогрева, наблюдали изменения формы хлоропластов до более округлой и сближение гран. 30% гран имели смещения тилакоидов, увеличивалось количество многотилакоидных гран. 10-ти минутный прогрев усиливал эти изменения. Появлялось большое количество хлоропластов с выростами, все граны становились многотилакоидными, часто наблюдалась расстыковка тилакоидов в центральной части граны. После 20-ти мин прогрева размер и форма хлоропластов в значительной степени восстанавливались. Большинство гран оставались многотилакоидными, снова появлялось небольшое количество малотилакоидных гран, сближений гран не наблюдалось, восстанавливалась ориентация вдоль продольной оси хлоропласта, длина стыкованной части гранальных тилакоидов уменьшалась на 7% по сравнению с контролем, наблюдалось увеличение крахмальных зерен. При 40-ка минутном прогреве крахмальные зерна сливались в одно большое, что приводило к смещению всей гранальной системы к периферии хлоропласта.

Проведенные исследования позволяют сделать вывод о немонотонной динамике структурно-функциональных изменений фотосинтетического аппарата на начальных этапах воздействия высокой температуры.

ИЗМЕНЕНИЕ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПРИЗНАКОВ РАСТЕНИЙ ПОД ВЛИЯНИЕМ ЭКОФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО ПОСЛЕДЕЙСТВИЯ

Change of quantitative characters of plants under the influence of an ecophysiological after-effect

Шелоухова Н.А.

ФГБНУ «Агрофизический научно-исследовательский институт», Санкт-Петербург, Россия; batygin@mail.ru

Последействия определенных факторов среды (температуры, света) на физиолого-биохимические процессы и реакции организма, фотосинтез, жизнеспособность особей в пределах одного поколения исследуются физиологами растений всех уровней организации жизни. Экофизиологические последействия среды на рост и развитие растений следующих поколений представляют чаще область теоретических рассуждений или практических рекомендаций, механизмы явления последействий описаны недостаточно. Биология развития организма не может быть искусственно оторвана от среды его существования. Растения подвергаются природно-климатическим и антропогенным воздействиям, адаптируются к среде. Резервные возможности растительного организма, заложенные в его собственной генетической системе, способны реализоваться при определенных сочетаниях среды в определенные периоды не только онтогенеза, но и в целом морфогенеза. Для решения некоторых проблем количественной биологии, в частности, физиологии и генетики, очень важно знать условия формирования организма, учитывать факторы среды развития особей предшествующего поколения, поскольку для растений некоторых генотипов экологические последействия оказываются значимыми и даже значительными. Наше исследование посвящено изучению биологического явления, при котором влияние внешних условий на формирование фенотипа особи (растения) прослеживается в следующем поколении, и наоборот, формирование фенотипа потомства зависит как от собственного генотипа, так и от фенотипа родительских особей (определенного генотипом и внешней средой материнского поколения). Взаимосвязь и взаимозависимость генотипа и среды (абиотической и биотической) в двух соседних поколениях мы определяем как явление преонтогенеза, применительно к растениям – явление превегетации.

Длительность и условия хранения семян становятся дополнительными существенными факторами в проявлении фенотипических эффектов. В формировании пигментной системы потомков материнская особь может играть немаловажную роль при неменделевском характере материнского наследования признака, например пятнистости листьев. Внешние условия развития растений и тип популяции (менделевская – перекрестники, самоопылители или популяции вегетативно размножающихся растений) влияют на формирование количественных признаков и изменчивость организмов. Морфолого-анатомическое строение растений и их органов отражает закономерные изменения особей и их потомства, которые могут быть описаны количественно. Общепринятые методики эколого-генетических экспериментов не позволяют избежать влияния последействия происхождения семян на развитие и продуктивность растений. Эффект последействия может быть ошибочно принят за адаптивность (Roach, Wulff, 1987). При анализе собственных и литературных данных, были обнаружены закономерности проявления эффекта превегетации, характерные не только для сортов (генотипов), но и для видов растений разных семейств: *Asteraceae*, *Brassicaceae*, *Fabaceae*, *Plantaginaceae*, *Poaceae*, *Solanaceae*. Для проявления эффекта превегетации характерно: 1) наличие лимитирующего фактора во время превегетации относительно контроля (в том числе, пессимальные значения, то есть нижняя и верхняя границы значений); 2) часто наличие лимитирующего фактора во время вегетации (чаще минимум, т.е. нижняя граница значений); 3) видоспецифичность; 4) сортоспецифичность (разный ответ в разных популяциях); 5) изменение (часто уменьшение) значений количественных признаков в среднем в 1,5-1,7 раза (увеличение относительной ошибки выборочной средней до 16%). Факторы превегетации подразделяют на группы: место репродукции (температура, влажность почвы, ФАР), условия корневого питания (N, NPK, органические удобрения), другие химические воздействия (обработка стимулятором роста, гуминовыми веществами и т.п.) и инфицирование растений. Любой из названных факторов может стать ведущим в зависимости от условий эксперимента. К этим условиям непременно относятся разнообразие генотипов, использованных в опыте, и среда вегетации. Не все генотипы фенотипически, биохимически и гормонально, восприимчивы к «чужой» материнской среде. Условия вегетации (необходимые для проявления экофизиологического последействия) могут быть определены как низкая или избыточная влажность почвы, низкая температура, место репродукции, фотопериод, недостаточность минерального питания. Речь идет о нагрузках среды на границах оптимума, когда выживаемость растений близка к 100%, но физиологическое состояние их изменено под давлением среды. Общим является для видов и список количественных признаков, подверженных эффекту превегетации, которые можно сгруппировать следующим образом: динамика онтогенеза, интенсивность ростовых процессов, в том числе фотосинтетических, количественные показатели продуктивности, резистентность к температуре, онтогенетическая адаптивность.

Связи «растение – среда превегетации» проигрывают связям системы «растение-среда» в амплитуде изменения абсолютных значений количественных признаков. Однако для некоторых генотипов – это один из рисков, помеха точности экофизиологического эксперимента. Учет характеристик сортообразца (генотипа) и факторов среды во время предшествующей вегетации растений, в частности, условий формирования семян – один из способов повышения надежности результата экофизиологического эксперимента.

ГОДИЧНЫЕ КОЛЬЦА И АССИМИЛЯЦИОННАЯ МАССА ДЕРЕВЬЕВ НА ШИРОТНОМ ГРАДИЕНТЕ

Tree rings and assimilation mass on latitudinal gradient

Шереметьев С.Н., Гамалей Ю.В., Слемнев Н.Н., Чеботарева К.Е., Степанова А.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ботанический институт им В.Л.Комарова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия; sn.sheremetiev@hotmail.com

Для обработки и анализа использованы наборы данных International Tree-ring Data Bank Measurements. Здесь хранятся в свободном доступе исходные результаты измерений, скомпонованные по географическому принципу. Всего обработано 1898 файлов (примерно 27% из имеющихся), которые содержали 57596 датированных серий данных ширины годичных колец (TRW). Для исследования изменений TRW на широтном градиенте (от 75° с.ш. до 55° ю.ш.) данные группировались в интервалах с шагом 5°. Поскольку средний для интервалов возраст растений был разным, то было необходимо провести корректировку средней ширины годичных колец в каждом интервале (TRW_{real}) на возраст. Для этого рассчитывалась ширина годичных колец (TRW_{age}), соответствующая среднему для каждого интервала возрасту. Вычитание TRW_{age} из TRW_{real} давало скорректированную на возраст (TRW_{adj}) ширину годичных колец. Положительные величины TRW_{adj} свидетельствуют о стимулирующем воздействии иных, чем возраст, факторов на радиальный прирост деревьев. Отрицательные значения TRW_{adj} говорят об угнетающем их влиянии. Числа, близкие к нулю, означают, что рост растений определялся преимущественно возрастом, а не иными причинами.

Концентрированным выражением влияния всех климатических факторов на рост и развитие растений, является продолжительность вегетационного периода. Широтный профиль длительности сезона роста, рассчитанный (Huston, Wolverton, 2009) по климатическим данным высокого разрешения (New et al., 2000), хорошо согласуется с широтным профилем ширины годичных колец. Однако в субтропиках северного полушария радиальный рост деревьев замедлен, что может быть связано с отбором образцов преимущественно в сухих местообитаниях или с более континентальным, чем в южном полушарии, климатом.

Ежегодная продукция листового опада у листопадных деревьев должна в точности соответствовать образующейся каждый год массе листьев, которая является источником строительных материалов для работы камбия. У вечнозеленых деревьев листовой опад, возможно, пропорционален вновь образующейся массе листьев (хвои). Если это так, то, видимо, поэтому наблюдается определенная пропорциональность в широтных профилях продукции листового опада (по данным, приведенным в работе Huston, Wolverton, 2009) и ширины годичных колец.

Моделирование первичной нетто-продукции (Net Primary Productivity – NPP) растительности с использованием различных подходов (см. Cramer et al., 1999) позволило выявить сезонные и погодичные изменения NPP в глобальном масштабе с высокой степенью разрешения (0.5° по широте и долготе) (Kicklighter et al., 1999; Schloss et al., 1999). Широтное распределение медиан, полученных из усреднения пятнадцати таких моделей (Kicklighter et al., 1999), хорошо совпадает с широтным профилем TRW.

В целом же, удовлетворительное соответствие широтных профилей TRW и климатических и биологических показателей, свидетельствует, на наш взгляд, об адекватном представлении изменений ширины годичных колец на широтном градиенте. Эти соответствия отчасти объясняют, почему TRW изменяется именно таким, а не иным образом. Широтный профиль TRW приобретает свою форму под воздействием климата и зависимой от него продукции ассимиляционной массы. Другими словами, ширина годичных колец отражает фотосинтетические и экспортные возможности фотосинтезирующего аппарата, которые зависят от возраста растений и климатических условий. Из климатических факторов зависимая от сокращений цитоскелета подвижность пищевого тракта наиболее легко подавляется холодом, водным дефицитом, высоким атмосферным давлением. Не удивительно, что глобальное распределение этих климатических факторов отражается на характере широтных изменений размеров годичных колец.

ИНАКТИВАЦИЯ ПРОТОННОЙ АТФазы ПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ МЕХАНИЗМ ВЛИЯНИЯ ВАРИАБЕЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА НА ФОТОСИНТЕЗ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Inactivation of plasma membrane proton ATPase as a probable mechanism of variation potential influence on photosynthesis in higher plants

Шерстнева О.Н., Сурова Л.М., Семина М.М., Сухов В.С.

Нижегородский государственный университет им. Н.И.Лобачевского, Нижний Новгород, Россия
sherstneva-oksana@yandex.ru

Электрические сигналы у высших растений, возникающие под воздействием факторов внешней среды, вызывают функциональные ответы, конечным результатом которых является повышение устойчивости к действию неблагоприятных факторов. Однако остается неизвестным, каким образом происходит преобразование электрических сигналов в функциональный ответ, в том числе, ответ фотосинтеза. В частности, рассматривается влияние инактивации H^+-АТФазы на этот процесс, однако, этот вопрос остается дискуссионным.

Эксперименты проводились на 2-3-недельных проростках гороха посевного (*Pisum sativum* L.). Вариабельный потенциал (ВП) индуцировался ожогом открытым пламенем. Электрическая активность регистрировалась с помощью стандартной электрофизиологической установки с экстраклеточным отведением. Исследование параметров фотосинтеза осуществлялось с помощью измерительной системы, включающей PAM-флуориметр Dual-PAM-100, газоанализатор GFS-3000, а также измерительный блок Dual-PAM gas exchange Cuvette 3010-Dual.

При прохождении ВП в исследуемый лист наблюдалось снижение уровня ассимиляции CO_2 и эффективности переноса электронов по цепи, а также рост нефотохимического тушения. В случаях, когда ВП не проходил в исследуемый лист, выраженных изменений фотосинтетических параметров не наблюдалось.

Для оценки pH апопласта и цитоплазмы проводился ратиометрический анализ. Концентрация протонов в апопласте оценивалась с помощью pH-чувствительного зонда FITC-декстрана, в цитоплазме - с помощью флуоресцентного зонда BCECF,AM. Для анализа использовалось отношение интенсивности флуоресценции на длинах волн возбуждающего света I_{490}/I_{460} и I_{490}/I_{450}, соответственно. Развитие ВП в исследуемом листе сопровождалось обратимым повышением pH апопласта на 0,22±0,02 (при pH в покое 5,7±0,1) и закислением цитоплазмы на 0,30±0,05 (при pH в покое 7,1 ±0,2).

Анализ динамик средних изменений pH и фотосинтетических параметров показал, что изменения ассимиляции CO_2 хорошо коррелируют с изменениями pH апопласта, а изменения нефотохимического тушения имеют динамику, близкую к динамике закисления цитоплазмы. Это показывает существование различных путей влияния изменений pH на фотосинтез.

Для имитации входа протонов в клетку использовался протонофор КЦХФГ, добавляемый в среду, омывающую лист интактного растения. Добавление КЦХФГ вызывало снижение квантовых выходов фотосистем I и II и рост нефотохимического тушения. Аналогичные изменения наблюдались при закислении среды выделения хлоропластов, при этом их амплитуда зависела от величины сдвига pH. Такие изменения соответствуют данным, полученным при генерации ВП, вызванным ожогом интактного растения.

Для анализа влияния ингибирования и активации H^+-АТФазы на фотосинтетический ответ лист растения вымачивался в растворе ортованадата или фузикокцина, соответственно. При этом предварительная обработка ортованадатом (500 мкМ) вызывала снижение амплитуды ВП и существенно подавляла фотосинтетический ответ. В частности, наблюдалось меньшее снижение ассимиляции CO_2 и квантовых выходов фотосистем I и II и меньший рост нефотохимического тушения. Обработка фузикокцином (1 мкМ) не оказывала существенного влияния на параметры ВП, однако несколько меняла фотосинтетический ответ. Так у обработанных листьев возрастала амплитуда снижения ассимиляции CO_2 и наблюдалось большее увеличение нефотохимического тушения. Изменений квантовых выходов фотосистем I и II обнаружено не было.

Таким образом, полученные результаты показывают, что развитие индуцированного ВП фотосинтетического ответа, по-видимому, обусловлено инактивацией протонной АТФазы плазматической мембраны и, соответственно, увеличением внутриклеточной концентрации протонов и снижением их внеклеточной концентрации. Влияние внеклеточной концентрации pH может быть связано с изменением активности карбоангидраз, аквапоринов и/или со сдвигом соотношения CO_2 и HCO_3^-. Влияние внутриклеточного pH может быть обусловлено закислением стромы и люмена хлоропластов. Такое закисление потенциально может снижать активность ферментов цикла Кальвина, вызывать транслокацию ферредоксин:$НАДФ^+$-редуктазы и изменение ее активности, а также увеличивать нефотохимическое тушение.

Работа поддержана грантом Российского научного фонда (проект №14-26-00098).

МОРФО-АНАТОМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА УСТОЙЧИВОСТИ ФОРМ РОДА *CERASUS* MILL. К КОККОМИКОЗУ В УСЛОВИЯХ ИЗМЕНЯЮЩЕГОСЯ КЛИМАТА

Morpho-anatomical characteristics of resistance of *Cerasus* Mill. forms to *Coccomices* under changing climate

Шестакова В.В., Кузнецова А.П.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства», Краснодар, Россия; shestakova-vv@mail.ru

Краснодарский край является основной зоной производства плодовых культур на Юге России. Однако в последние годы площади, занимаемые данными культурами, значительно сокращаются. Одной из причин этого является участившееся проявление эпифитотийного развития грибных болезней, особенно у косточковых культур (черешни и вишни) – коккомикоза, возбудитель *Coccomyces hiemalis* Higg, что связано с изменившимися климатическими условиями (длительные экстремально-низкие температуры в зимний период и оптимальный для развития болезней водно-температурный режим мая-августа в годы исследований). В связи с этим возникает необходимость использования в селекционном процессе растений с различными типами устойчивости к данному патогену. Для выделения форм, различающихся по поражаемости коккомикозом еще на ранних стадиях развития растения, нужны методы экспресс-оценки устойчивости по морфо-анатомическим и физиолого-биохимическим параметрам.

В связи с этим проводилась работа по выявлению количественных морфологических показателей, связанных с устойчивостью к коккомикозу сеянцев вишне-черешневых гибридов (56 штук), производных *C. lannesiana* № 2 и анатомических характеристик листа представителей рода *Cerasus* Mill., различающихся по устойчивости к данному грибу. Установлено, что устойчивые гибриды отличаются от неустойчивых по величине таких показателей, как: длина междоузлий, размер вегетативной почки, глубина надреза края листа, количество нектарников, размер чечевичек.

У устойчивых гибридов длина междоузлий была больше, чем у неустойчивых в 1,2 раза, размер вегетативной почки - в 1,2 раза; глубина надреза края листа и количество нектарников – в 1,4 раза; размер чечевичек в 2 раза.

С помощью дисперсионного анализа изучали долю влияния фактора поражаемость коккомикозом на морфологические признаки в разные периоды развития инфекции.

Наибольшие различия отмечены у гибридов в период максимального поражения коккомикозом. Для объединения этих признаков в комплекс использован метод главных компонент. Первые три главные компоненты (из четырех) учли 85,5% общей дисперсии признаков. По выделенным различиям был проведен кластерный анализ по Уорду, который разделил все изучаемые растения на три кластера. В первый кластер попали формы похожие на материнскую форму (поражаемую коккомикозом вишню Булатниковская), в третью - похожие на иммунную к болезни отцовскую форму, производную от *C. lannesiana №2.* Доказательством правильного разделения по выделенным признакам послужило то, что попавшие в первый и третий кластеры растения резко различались по поражаемости. Таким образом, установлены количественные морфологические показатели, связанные с устойчивостью к коккомикозу.

Изучение анатомических характеристик листа (толщины кутикулы, устьичого аппарата, опушенности листовой пластинки) показало, что у поражаемых форм толщина кутикулы меньше, чем у непоражаемых форм в 2,3 раза.

Устойчивая гибридная форма и образец с полигенным типом устойчивости имели ярко выраженный плотный, однородный слой под кутикулой, клетки столбчатой эпидермы плотно примыкали друг к другу, что являлось дополнительным фактором устойчивости к болезни. Хотя существуют противоречивые сведения о связи опушенности листа с устойчивостью к патогенам, нами отмечено, что наличие волосков у восприимчивых форм, в отличие от исследуемых непоражаемых или слабо поражаемых образцов, производных от восточно-азиатских видов.

Генетико-статистический анализ устьичного аппарата показал статистически достоверные различия по количеству устьиц у форм рода *Cerasus* Mill. с различной степенью поражения коккомикозом. У сильно поражаемых форм количество устьиц больше (570 шт. на 1 мм^2), чем у непоражаемых и слабо поражаемых форм (313 шт. на 1 мм^2) ($t=40,26$, при $p=0,05$).

Использование выделенных морфо-анатомических показателей, связанных с устойчивостью форм рода *Cerasus* Mill. к коккомикозу, с помощью генетико-статистического анализа и автоматизированных систем капиллярного электрофореза позволит разработать экспресс-методы оценки поражаемости данным патогеном растений еще на ранних сроках их развития, что в свою очередь ускорит селекционный процесс.

ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА НА ПРОРАСТАНИЕ СЕМЯН С РАЗНЫМ СОСТАВОМ ЗАПАСНЫХ ВЕЩЕСТВ В УСЛОВИЯХ ОПТИМАЛЬНЫХ И ПОНИЖЕННЫХ ТЕМПЕРАТУР

The effects of melatonin treatment on germination of seeds with different types of reserves under optimum and low temperatures

Шибаева Т.Г.[1], Мамаев А.В.[2]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия; shibaeva@krc.karelia.ru*

[2] *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия; adgsn@yandex.ru*

Мелатонин – гормон, обнаруженный практически у всех организмов, включая высшие растения. Его биологические функции у растений достаточно разнообразны и включают регуляцию роста и развития, циркадной ритмики, защиту от стресс-факторов. В частности, установлено, что мелатонин обладает хорошо выраженными анти- и прооксидантными свойствами, определяющими его протекторные возможности при свободно-радикальном повреждении ДНК, белков и липидов. Благодаря малому размеру молекул и рецепторнезависимому механизму действия у растений, он способен проникать через плазматическую мембрану и воздействовать на свободно-радикальные процессы. Тем не менее, пока роль и механизмы действия мелатонина в растениях изучены далеко не полно, а данных о влиянии мелатонина на прорастание семян в литературе крайне мало. В связи с этим цель нашей работы состояла в изучении влияния экзогенного мелатонина на прорастание семян с разным составом запасных питательных веществ в условиях оптимальных и пониженных температур.

В качестве объектов исследования служили семена 17 видов растений, характеризующиеся разным составом запасных питательных веществ: пшеницы мягкой (*Triticum aestivum* L.), ржи посевной (*Secale cereale* L.*)*, сои культурной (*Glycine max* (L.) Merr.), гороха посевного (*Pisum sativum* L.*)*, огурца посевного (*Cucumis sativus* L.), томата обыкновенного (*Solanum lycopersicum* L.), перца овощного (*Capsicum annuum* L.), щавеля кислого (*Rumex acetosa* L.), укропа пахучего (*Anethum graveolens* L.), кресс-салата (*Lepidium sativum* L.), латука посевного (*Lactuca sativa* L.), шпината огородного (*Spinacia oleracea* L.), горчицы белой (*Sinapis alba* L.), клевера лугового (красного) (*Trifolium pratense* L.), подсолнечника однолетнего (*Helianthus annuus* L.), лена крупноцветкового (*Linum grandiflorum* Desf.), сафлора красильного (*Carthamus tinctorius* L.). В ходе исследования определяли лабораторную всхожесть и энергию прорастания семян в условиях оптимальных (22-28˚С) и пониженных (4-15˚С) температур. Мелатонин (N-ацетил-5-метокситриптамин) применяли в виде препарата Мелаксен (Uniparm, Inc New York, США).

Установлено, что добавление мелатонина (25-100 мкМ) в водную среду для предпосевной обработки семян увеличило у ряда видов скорость прорастания семян при пониженных температурах, но не влияло или оказывало слабое положительное воздействие на этот процесс в оптимальных температурных условиях. Важно, что влияние экзогенного мелатонина на прорастание семян сильно различалось у разных видов. В большей степени в условиях пониженных температур мелатонин ускорял прорастание маслянистых семян, в меньшей – белковых, и не оказывал влияния на крахмалистые семена. Следовательно, степень влияния мелатонина на прорастание семян существенным образом зависит от типа преобладающих запасных веществ в эндосперме, и семена, у которых доля жиров в составе запасных питательных веществ мала (например, 0,7% у *Triticum aestivum*, 2% у *Secale cereale*) практически не реагируют на экзогенный мелатонин. По-видимому, это связано с тем, что механизм действия мелатонина на семена растений в условиях низких температур основан на антиоксидантной защите наиболее уязвимых для окислительного стресса и повреждения тканей семени, а именно на защите запасных липидов семян от пероксидации, что увеличивает жизнеспособность и энергию прорастания семян. Полученные данные о положительном влиянии экзогенного мелатонина на прорастание семян в оптимальных условиях у некоторых видов (*Anethum graveolens, Lepidium sativum, Linum grandiflorum, Rumex acetosa*) свидетельствуют о возможном существовании и иных механизмов воздействия мелатонина на прорастающие семена наряду с антиоксидантной защитой.

Таким образом, полученные данные позволяют заключить, что характер влияния мелатонина на прорастание семян зависит как от температурных условий, так и от особенностей семян, связанных с составом запасных питательных веществ.

Работа выполнена с использованием оборудования Центра коллективного пользования научным оборудованием Института биологии КарНЦ РАН.

ВЛИЯНИЕ КРАТКОВРЕМЕННЫХ ЕЖЕСУТОЧНЫХ ПОНИЖЕНИЙ ТЕМПЕРАТУРЫ НА АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В ЛИСТЬЯХ *CUCUMIS SATIVUS* L. РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Antioxidant enzyme responses to a daily short-term temperature drop in cucumber leaves of various ages

Шибаева Т.Г., Шерудило Е.Г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия; shibaeva@krc.karelia.ru

В многочисленных работах установлено, что активность антиоксидантных (АО) ферментов играет важную роль в реакции теплолюбивых растений на охлаждение. Изменение активности АО ферментов при этом зависит от интенсивности действующей на растения температуры и продолжительности воздействия, видовых и сортовых особенностей объекта. Ранее было обнаружено, что применение ДРОП (ежесуточное снижение температуры на 2 ч в конце ночного периода до 12°С, от англ. *drop* - падение) приводит к повышению холодоустойчивости (ХУ) растений огурца. Также на растениях огурца была показана связь между ХУ и активностью АО ферментов. Однако, анализ литературы показывает, что большинство данных, касающихся этого объекта, были получены с использованием повреждающих температур (2-5°). Поэтому остается не вполне ясным, как изменяется активность АО ферментов при действии на растения низких закаливающих температур. Кроме того, в литературе очень мало внимания уделено влиянию возраста листа на чувствительность к холоду. В связи с этим целью работы было изучить зависит ли реакция растений на ДРОП от активности АО ферментов и влияет ли возраст листа на чувствительность к кратковременным низкотемпературным воздействиям.

Растения огурца (*Cucumis sativus* L.) выращивали в камерах искусственного климата при температуре воздуха 23°С, ФАР 150 мкмоль/($м^2$·с), фотопериоде 12 ч. Часть растений подвергали 2 ч действию температуры 12°С в конце ночного периода (ДРОП) в течение 6 сут в период с 12 по 17 сут (развернувшийся первый настоящий лист в это время находился в фазе активного роста и достигал 60-70% от окончательной площади) (ДРОП 1). Другая часть растений подвергалась ДРОП-воздействиям в период с 18 по 23 сут, когда первый лист находился уже в зрелом состоянии, заканчивая рост (ДРОП 2). Третья часть растений подвергалась ДРОП-воздействиям в период с 12 по 23 сут, за это время развернувшийся первый лист достигал своих окончательных размеров (ДРОП 3). Контролем служили растения, не подвергавшиеся ДРОП.

Исследование показало, что действие ДРОП в течение 6 сут на растущие (ДРОП 1) или зрелые листья (ДРОП 2) не оказывает значительного влияния на накопление биомассы растения и площадь листьев, тогда как растения, подвергавшиеся действию ДРОП в течение всего периода роста листа (ДРОП 3) имели меньший сухой вес и площадь листьев по сравнению с растениями других вариантов опыта.

У зрелых листьев огурца (ДРОП 2) под влиянием ДРОП значительно повысилась холодоустойчивость (ХУ, $ЛТ_{50}$, °С). ХУ активно растущих листьев (ДРОП 1), измеренная по окончании ДРОП-воздействий в течение 6 сут, также увеличивалась, но в значительно меньшей степени. Однако, по мере дальнейшего роста листьев уже в оптимальных условиях их ХУ возрастала и к концу опыта достигла уровня устойчивости растений варианта ДРОП 2. ДРОП-водействие в течение всего периода роста листьев (вариант ДРОП 3) вызывало постепенное повышение ХУ до уровня устойчивости, характерного для варианта ДРОП 2.

Действие ДРОП на зрелые листья (ДРОП 2) не вызывало изменений в активности АО ферментов и интенсивности перекисного окисления липидов. При действии ДРОП на растущие листья (ДРОП 1 и ДРОП 3) активность супероксиддисмутазы и пероксидазы снижалась на 50-60% по сравнению с контролем, активность аскорбатпероксидазы снижалась только в пересчете на сухой вес (но не на белок), а также наблюдалась тенденция к снижению активности каталазы. Уровень малонового диальдегида в вариантах ДРОП 1 и ДРОП 3 был выше по сравнению с контролем на 30%.

Таким образом, установлено, что ежесуточные кратковременные понижения температуры до закаливающих значений (ДРОП) вызывают снижение активности АО ферментов в активно растущих листьях, но не оказывают влияния на активность этих ферментов в зрелых листьях. По-видимому, механизм повышения устойчивости растений к низким закаливающим температурам, основанный на увеличении антиоксидантной активности, описанный для теплолюбивых видов, не участвует в реакциях растений огурца на ДРОП-воздействия, а наблюдаемое в этом случае повышение ХУ обусловлено иными механизмами из широкого спектра адаптивных реакций, которыми обладают растения. Различный отклик зрелых и растущих листьев на ДРОП указывает на то, что индукция защитно-приспособительных реакций растений на неблагоприятные температурные воздействия зависит от возраста листа.

Работа выполнена с использованием оборудования Центра коллективного пользования научным оборудованием Института биологии КарНЦ РАН при финансовом обеспечении из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания (№ темы 0221-2014-0002) и РФФИ (проект № 14-04-00840_а).

РОЛЬ СВЕТА В РЕАКЦИЯХ РАСТЕНИЙ НА КРАТКОВРЕМЕННЫЕ ЕЖЕСУТОЧНЫЕ ПОНИЖЕНИЯ ТЕМПЕРАТУРЫ

The role of light in plant response to daily short-term temperature drop

Шибаева Т.Г., Шерудило Е.Г., Икконен Е.Н., Титов А.Ф.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия; shibaeva@krc.karelia.ru

В контролируемых условиях среды изучали реакцию теплолюбивого растения *Cucumis sativus* L. и холодостойкого *Triticum aestivum* L. на кратковременные (2 ч) ежесуточные понижения температуры (до 12 и 9°С для огурца и до 12 и 4°С для пшеницы) (ДРОП-воздействия) в конце ночи или в начале светового периода. В разных вариантах опыта интенсивность света составляла 150 и 250 мкмоль/(м^2·с) ФАР.

Установлено, что ДРОП-воздействие на свету оказывает более выраженное влияние на состояние фотосинтетического аппарата, рост, развитие и холодоустойчивость растений. При этом более ощутимо влияние света проявлялось при более низких температурах. Так, если температура 12°С не вызывала у огурца снижения биомассы и накопления малонового диальдегида (МДА) ни в темноте, ни на свету, то под влиянием температуры 9°С содержание МДА повышалось и в темноте, и на свету, хотя и в разной степени, а биомасса растений снижалась при этом только в условиях действия ДРОП на свету.

Интенсивность света также имела значение, т.к. эффекты ДРОП были более четко выражены в условиях более высокой интенсивности света. Так, при относительно низкой интенсивности света (150 мкмоль/м^2 с) накопление МДА происходило одинаково в вариантах опыта с действием ДРОП в темноте и на свету, а при более высокой интенсивности света (250 мкмоль/м^2 с) МДА накапливался больше под влиянием ДРОП на свету.

Прирост холодоустойчивости растений огурца при действии ДРОП на свету был выше у растений огурца и пшеницы при действии всех изучаемых снижений температуры, причем величина прироста была выше, когда растения выращивали и подвергали действию ДРОП в условиях более высокой освещенности.

Как показали наши опыты, у растений пшеницы, в отдичие от огурца, при кратковременных ежесуточных действиях низкой положительной температуры (12 и 4°С) повышения интенсивности перекисного окисления липидов не наблюдается, причем независимо от световых условий.

Таким образом, влияние ДРОП на рост, развитие и холодоустойчивость растений различается не только в зависимости от действующей на растения температуры, но и от интенсивности освещения. При этом в реакции растений огурца и пшеницы на ДРОП имеются существенные различия, которые, очевидно, связаны не только с их разной холодостойкостью, но и разными механизмами, лежащими в основе данного признака у этих растений.

Работа выполнена с использованием оборудования Центра коллективного пользования научным оборудованием Института биологии КарНЦ РАН при финансовом обеспечении из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания (№ темы 0221-2014-0002) и РФФИ (проект № 14-04-00840_а).

ВЛИЯНИЕ ОБРЕЗКИ НА ДРЕВЕСНЫЕ РАСТЕНИЯ В УСЛОВИЯХ МЕГАПОЛИСА

Influence of pruning on woody plants under megalopolis conditions

Широкова Н.П.

Омский автобронетанковый инженерный институт, Омск, Россия; Natalivita@mail.ru

В условиях мегаполиса декоративные, особенно древесные, растения играют важную роль. Одним из основных мероприятий по правильному содержанию зеленых насаждений является обрезка кроны деревьев. Главная задача обрезки декоративных растений - это достижение максимального декоративного эффекта или оптимальной продуктивности, создания привлекательной формы и внешнего вида растения, обеспечение сбалансированного роста, цветения и плодоношения, т.е. повышение жизнеспособности и декоративности растений на объектах города. Однако, как показывает практика, обрезка древесных растений проводится неаккуратно, без соблюдения основных правил. Это приводит к болезням растений, и в конечном итоге, к их гибели.

При естественном росте дерева на каждом возрастном этапе складывается соответствующее определенное динамическое равновесие между всеми его органами и частями. При уменьшении объема надземной системы дерево активизирует все процессы жизнедеятельности для возможно более быстрого восстановления характерного для данного состояния равновесия. При утрате (обрезка, поломка, вымерзание) небольшого числа ветвей усиливается лишь рост побегов по периферии кроны; при более сильной обрезке в дополнение к этому пробуждаются спящие почки, наблюдается сильное волчкование. Если этого окажется недостаточно для восстановления утраченного равновесия, появляется прикорневая поросль. Очень сильное нарушение вызывает отмирание части корней. Это нередко наблюдается в случаях больших поломок, неумеренной обрезки.

Все приемы обрезки основаны на преднамеренном нарушении установившегося у растения на данном этапе равновесия, с тем чтобы вызвать вполне определенную реакцию: усилить рост отдельных или всех ветвей данного дерева. При правильном выборе степени нарушения равновесия в кроне будет создано требующееся соотношение ветвей разной длины. Продолжительность жизни и декоративность того или иного растения также во многом зависят от правильной и своевременной обрезки.

Существует три вида обрезки: формовочная, санитарная и омолаживающая, которые проводят обычно с октября по апрель (после листопада до начала сокодвижения). Формовочная (формирующая) обрезка помогает создать крону определенного типа с заданной плотностью скелетных и временных обрастающих ветвей. При проведении формовочной обрезки необходимо учитывать естественную форму кроны, ее возрастные изменения, возможность пробуждения спящих почек и способность растения переносить обрезку. Формовочную обрезку лучше всего проводить ранней весной, перед началом вегетации (конец февраля - начало апреля). Побеги в это время содержат много влаги, срезы получаются ровные и быстро зарастают. Зимняя и осенняя обрезка может привести к повреждению морозами открытой древесины и иссушению почек, расположенных около срезов. У древесных видов с обильным сокодвижением (береза, клен) обрезку необходимо проводить в более ранние сроки. Омолаживающая обрезка - это глубокая обрезка ветвей до их базальной части, стимулирующая образование молодых побегов, создающих новую крону. Такую обрезку деревьев следует проводить только у видов, обладающих хорошей побегообразовательной способностью в любом возрасте, учитывая возраст (чем выше возраст, тем меньше степень обрезки, а не на оборот) и состояние дерева. Санитарная обрезка позволяет удалить отмершие, больные, поврежденные и пересекающиеся ветки, а также помогает придать кроне растения аккуратную форму.

При выполнении различных видов обрезок нужно соблюдать и другие важные правила. Так, прежде чем удалять крупный тяжелый сук, необходимо вырезать как можно больше веток и веточек, расположенных на нем, а затем спилить его по частям. Смысл такой операции - в том, чтобы предотвратить расщепление древесины и сдирание коры полосами. В противном случае легко спровоцировать образование глубоких ран и серьезно повредить дерево. К сожалению, это очень часто можно наблюдать в городах. Кроме того, срезы делают настолько близко к основному стволу дерева, что нередко даже срезают кору основного ствола дерева. Края больших срезов необходимо тщательно зачищать - это поможет им, как можно быстрее зарасти каллусом. Срезы не должны иметь канавок, в которых может скапливаться влага. Их покрывают садовой замазкой или варом для защиты растений от грибковых заболеваний. Нельзя часто и очень сильно обрезать дерево. В результате многократных, сильных обрезок дерево вынужденно постоянно восстанавливать утраченные части. Кроме того, при сильном укорачивании вновь образующиеся побеги зачастую не вызревают, и зимой верхушки их подмерзают. К такому укорачиванию прибегают, как можно, реже. Для получения регулярных здоровых и мощных приростов очень важно после обрезки обеспечить достаточную подкормку и полив растений. Данная работа в мегаполисах обычно вообще не осуществляется.

В связи с вышеизложенным, обрезка деревьев и кустарников требует специальных знаний и должна проводиться персоналом, владеющим техникой обрезки и знакомым с биологическими особенностями деревьев и кустарников. Необходимо, чтобы и подготовка кадров, и обрезка растений, а также общий уход за растениями в мегаполисах осуществлялись с учетом видовых и биологических особенностей растений и под контролем их физиологического состояния.

ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ФОТОСИСТЕМЫ 2 С ПОМОЩЬЮ ИНГИБИТОРОВ КАРБОАНГИДРАЗ

Investigation of photosystem II function using carbonic anhydrase inhibitors

Шитов А.В.[1], Жармухамедов С.К.[1], Аллахвердиев С.И.[1,2], Климов В.В.[1]

[1] Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук, Пущино, Московская обл., Россия; aleksshitow@rambler.ru;
[2] Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия

Выяснение механизма фотосинтетического окисления воды в высших растениях и закономерностей работы фотосистемы 2 (ФС-2) является одной из фундаментальных проблем современной науки. Ранее было показано, что ФС-2 высших растений и водорослей, помимо фотосинтетической, проявляет карбоангидразную активность, но ее значимость была экспериментально подтверждена только для одного организма – одноклеточной водоросли *Chlamydomonas reinhardtii*, а взаимосвязь карбоангидразной и фотосинтетической активностей в ФС-2 высших растений ставилась под сомнение. Изучение действия ингибиторов карбоангидраз на ФС-2 является информативным подходом к выяснению значимости карбоангидразной активности и ее роли в ФС-2.

Нами было показано, что ряд сульфаниламидных ингибиторов карбоангидраз и их производных ингибировали как фотосинтетическую, так и карбоангидразную активности ФС-2. Нами также были выявлено, что степень подавляющего действия этих веществ на фотохимию кореллирует с pK_a ингибитора. Это свойство характерно для карбоангидразной активности известных карбоангидраз и данный результат свидетельствует о наличии взаимосвязи между карбоангидразной и фотосинтетической активностями. С использованием доноров электрона и ионов бикарбоната было ясно показано, что действие данных ингибиторов связано с повреждением донорной стороны ФС-2 и именно с уменьшением карбоангидразной активности. Выявление взаимосвязи между структурой молекул и ингибирующим действием сульфаниламидов и их производных на ФС-2 позволят глубже понять механизм работы этого пигмент-белкового комплекса в высших растениях и роль в его функционировании карбоангидразной активности.

Работа частично поддержана грантами РФФИ: 14-04-32315 мол_а, 13-04-91372.

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНОГО ПО СПЕКТРУ ИЗЛУЧЕНИЯ СВЕТОДИОДНЫХ ИСТОЧНИКОВ СВЕТА НА УРОВЕНЬ НЕФОТОХИМИЧЕСКОГО ТУШЕНИЯ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА ЛИСТЬЕВ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ ПРИ ИХ КУЛЬТИВИРОВАНИИ В ИСКУССТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ СРЕДЫ

The effect of the LED light sources with the different spectrum on the nonphotochemical fluorescence quenching in the leaves of higher plants under artificial growth conditions

Шихов В.Н., Ушакова С.А., Тихомиров А.А., Григоращенко Я.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биофизики Сибирского отделения Российской академии наук, Академгородок, Красноярск, Россия; ubflab@ibp.ru

Светодиодные источники света за последние годы получили широкое распространение в самых разных областях применения, в том числе и в светокультуре растений, где внедряются светодиоды с сине-красным спектром излучения, подобным спектру поглощения видимого света зеленым листом (так называемый фитоспектр). При этом излучение такого источника света в инфракрасной (ИК) области существенно ниже как традиционных облучателей (ламп высокого давления), так и естественного освещения, что может формировать иной температурный режим у листьев растений и вызывать тем самым перераспределение энергетических потоков в фотосинтетическом аппарате (ФСА). В этой связи нами был проведен мониторинг состояния ФСА листьев различных видов растений, выращенных в условиях полной светокультуры с использованием ламп ДНаТ-400 и ДМ3-3000 и светодиодных источников света с условно «белым» спектром и фитоспектром. В качестве тестовых видов растений были выбраны салат, редис, пшеница и чуфа. Состояние ФСА оценивали по стандартным параметрам импульсно-модулированной флуоресценции хлорофилла при помощи флуориметра PAM-2100 (Heinz, Walz, Германия).

Первая стадия экспериментов проходила на установке открытого типа с использованием ламп ДНаТ-400 и светодиодов с фитоспектром. Измеренная при помощи пирометра температура листьев растений на данной установке действительно показала меньшую на 2-3°С температуру у растений под светодиодами. В результате выращивания растений салата было показано отсутствие на протяжении большей части онтогенеза достоверных различий в состоянии ФСА листьев растений, оцениваемом по показателям PAM-флуориметрии. Исключением были достоверно более высокие (на 20%) значения нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла у растений салата, выращенных под светодиодами с фитоспектром, что могло говорить о вынужденном переводе части поглощенной энергии на нефотохимическое рассеяние в виде тепла из-за необходимости поддержания листом своей температуры. Для выделения эффекта непосредственно от спектрального состава света дальнейшие исследования были проведены в установках закрытого типа со светодиодами двух типов – с фитоспектром и с условно «белым» спектром, а в качестве контроля были использованы лампы ДМ3-3000. Доля ИК области в обоих вариантах светодиодных источников света составляла порядка 2-3%, а для ламп ДМ3-3000 – 45-50%. В результате проведенных экспериментов было показано, что для растений салата и редиса эффект более высоких (на 15-20%) значений нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла в ходе онтогенеза листьев подтверждается только для растений, выращенных под светодиодными источниками света с фитоспектром. Растения салата и редиса, выращенные под светодиодными облучателями с «белым» спектром по состоянию ФСА ничем не отличались от растений, выращенных под лампами ДМ3-3000, несмотря на разницу в доле ИК радиации. Для растений пшеницы значения нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла на протяжении онтогенеза листьев не отличались во всех вариантах использованных источников света, однако под светодиодами с фитоспектром значения фотохимического тушения флуоресценции хлорофилла были достоверно ниже (на 50%) нефотохимического и ниже (на 35%), чем в двух других вариантах. Достоверно значимых различий в значениях других параметров флуоресценции хлорофилла между вариантами у растений данных трех видов в течение онтогенеза листьев не наблюдалось. Таким образом, гипотеза о том, что более высокие значения нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла могут быть связаны с необходимостью поддержания ФСА листа своей температуры в условиях нехватки ИК излучения, не подтвердилась. В этих же экспериментальных условиях листья растений чуфы, единственного из всех исследованных видов, не показали достоверно значимых различий между тремя вариантами источников света в значениях каких-либо параметров флуоресценции хлорофилла, включая фотохимическое и нефотохимическое тушение флуоресценции. В данном случае остается открытым вопрос, является ли этот факт особенностью конкретного одного вида, либо это общее правило для растений C_4 типа углеродного метаболизма, к которым, в отличие от других исследованных в данной работе видов, принадлежит чуфа.

Полученные результаты позволяют сделать предположение о том, что ФСА листьев ряда видов растений при их выращивании под светодиодными источниками света с фитоспектром вырабатывает качественно иную стратегию использования поглощенной световой энергии, не связанную с величиной доли ИК излучения.

Исследование проведено при поддержке Российского Научного Фонда (проект №14-14-00599).

РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ПРОТОННЫХ НАСОСОВ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ НА ТРАНСКРИПЦИОННОМ УРОВНЕ В ХОДЕ РОСТА РАСТЯЖЕНИЕМ

The regulation of plant cell proton pumps at transcriptional level during elongation growth

Шишова М.Ф.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия
mshishova@mail.ru

Рост растяжением решает ряд физиологических задач, основанных на «движении» растительных организмов, являющихся преимущественно организмами прикрепленного образа жизни. Этот уникальный процесс включает в себя несколько этапов: последовательное соизменении тургорного и осмотического давления, размягчение клеточной стенки, усиление синтетических и секреторных процессов, приводящих к удлинению плазмалеммы, тонопласта, формированию вторичной клеточной стенки и т.п. Изменение тургорного давления и размягчение клеточной стенки опосредовано активацией H^+-АТФазы плазмалеммы. Многократное увеличение клетки, как и любой морфофизиологический процесс, затрагивает все компартменты клетки. Резкое изменение объема вакуоли, затрагивающее изменение осмотического давления, невозможно без вовлечения протонных насосов тонопласта. Следует подчеркнуть, что все перечисленные процессы связаны с энергизацией (изменением величины трансмембранного потенциала) на плазмалемме и тонопласте, а, следовательно, являются процессами энергетически затратными и определяются физиологической активностью клетки.

Полученные ранее результаты (Рудашевская и др., 2005; 2009; Шишова и др., 2012) свидетельствуют о нелинейном изменении активности протонных насосов клетки в ходе роста растяжением. Тем не менее, не ясно, связано ли изменение активности транспортеров с изменением числа ферментных комплексов, а, следовательно, с регуляцией на транскрипционном уровне, или опосредовано изменением их свойств в результате пост-транскрипционных перестроек.

Проведен сравнительный анализ экспрессии генов, кодирующих H^+-АТФазы плазмалеммы и субъединиц H^+-АТФазы тонопласта. Доказано, что в гипокотилях и корнях этиолированных проростков арабидопсиса профиль экспрессии анализируемых генов во многом различается, что соответствует различиям физиологических особенностей роста этих ювенильных органов. Изменение на транскрипционном уровне коррелирует с накоплением кодируемых белков, что подтверждено с помощью иммуноблотт-анализа.

Предложена модель регуляции активности H^+-АТФаз плазмалеммы и тонопласта в ходе роста растяжением.

Работа частично поддержана грантом РФФИ № 13-04-00945-а.

РАЗНООБРАЗИЕ ФОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ВЫСШИХ СОСУДИСТЫХ РАСТЕНИЙ НА ЗАПАДНОМ ШПИЦБЕРГЕНЕ

Variability of photosynthetic apparatus of vascular plants in West Spitsbergen (Svalbard)

Шмакова Н.Ю.[1], Марковская Е.Ф.[2]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Полярно-альпийский ботанический сад-институт им. Н.А. Аврорина Кольского научного центра Российской академии наук, Кировск, Мурманской обл., Россия; shmanatalya@yande.ru*

[2] *Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия; volev@sampo.ru*

Данные о пигментах пластид растений из экстремальных условий обитания представляют необходимую часть эколого-физиологической характеристики вида, позволяющую наряду с другими показателями выявить адаптацию фотосинтетического аппарата, обеспечивающего жизнедеятельность растений в условиях Арктики.

Цель исследования – характеристика фотосинтетического аппарата видов высших сосудистых растений в арктических тундрах Западного Шпицбергена.

Работа выполнена в сообществах арктических тундр Западного Шпицбергена. Исследования проведены в 2007–2014 гг. в нескольких районах: 1) окрестности пос. Баренцбург; 2) окрестности пос. Пирамида; 3) бухта Колсбей, 4) бухта Трюггхамна. Содержание пигментов пластид определяли с помощью спектрофотометра (UV-1800, Shimadzu) в спиртовой вытяжке по оптической плотности в максимумах поглощения хлорофиллов *a* и *b* и каротиноидов.

Флора Шпицбергена представлена 164 видами сосудистых растений, 288 видами мхов, 600 таксонами лишайников. В настоящее время нами исследован пигментный комплекс 97 видов сосудистых растений (20 семейств, 48 родов), что составляет 60% всей флоры Шпицбергена. Среди исследованных видов сосудистых растений 86% относятся к арктической фракции: в том числе арктических - 24%; преимущественно арктических – 27%; метаарктических - 7%, арктоальпийских - 28%. В группе гипоарктической фракции - 9%, в бореальной - 5% видов. Наиболее изученными по количеству видов оказались семейства: гвоздичные (*Caryophyllaceae*), крестоцветные (*Brassicaceae*), камнеломковые (*Saxifragaceae*), злаковые (*Poaceae*), которые входят в число ведущих семейств Арктики. В таких семействах как, хвощевые, плауновые, березовые, маковые, водяниковые, синюховые, бурачниковые, норичниковые изучены все известные на архипелаге виды сосудистых растений.

Диапазон величин содержания хлорофиллов у цветковых растений Западного Шпицбергена составляет 0,4-2,6 мг/г сырого веса, каротиноидов – 0,1-0,9 мг/г сырого веса; соотношения хлорофиллов (*a/b*) – 1,1-4,4, хлорофиллы/каротиноиды (х/с) – 1,8-5,5. Содержание хлорофиллов в светособирающем комплексе (ССК) – 41-82%. В среднем содержание хлорофиллов достигает 1.08+0.04 мг/г сырого веса, каротиноидов – 0.30+0.01 мг/г сырого веса; (*a/b*) – 3,1, (х/с) – 3,7. Среди изученных видов равноценно представлены группы с содержанием хлорофиллов 0,4-0,8 и 0,8-1,0 мг/г сырого веса (по 25%), большинство видов содержит 1,0-2,0 мг/г сырого веса, и всего 5% - свыше 2 мг/ сырого веса. Содержание каротиноидов у 60% изученных видов составляет величину не более 0,3 мг/г сырого веса.

Минимальное содержание хлорофиллов (ниже 0,5 мг/г сырого веса) отмечено у пяти видов из разных семейств: *Silene acaulis,* (сем. Caryophyllaceae), *Draba norvegica*. (сем. Brassicaceae), *Saxigraga cespitosa*, *S. platysepala* (сем. Saxifragaceae), *Eufhrasia frigida* (сем. Scrophulariaceae). Максимальные значения (свыше 2 мг/г сырого веса) отмечены у представителей более продвинутых семейств – у *Juncus biglumis* (сем. Juncaceae), *Carex nardina, Carex misandra*, *C. parallela*, *C. lachenalii* (сем. Cyperaceae). Виды с максимальным количеством хлорофиллов характеризуются и максимумом содержания каротиноидов (виды сем. осоковых и ситниковых). Виды более примитивных семейств (*Caryophyllaceae, Brassicaceae, Saxifragaceae)* содержат в среднем в 1,5-2 раза меньше пигментов по сравнению с более продвинутыми семействами (Cyperaceae, *Poaceae*). В семействах с высоким содержанием пигментов расчетные соотношения пигментов (*a/b*; х/с) свидетельствуют о большей доле хлорофилла *a* и меньшей каротиноидов. У видов же с низким содержанием пигментов больше выражена защитная функция желтых пигментов и хлорофилла *b*. Соответственно и выше значения размера светособирающего комплекса. Соотношение хлорофиллов у изученных видов арктических тундр, как правило, ниже, чем у бореальных, что выражено в большей доле хлорофиллов в ССК. Это свидетельствует о принадлежности к теневому типу и адаптации к низкой освещенности. Эта адаптивная особенность растений может быть специальным механизмом, компенсирующим низкое содержание хлорофиллов – большим его накоплением в ССК.

Полученные данные о содержании фотосинтетических пигментов в высших сосудистых растениях арктических сообществ показали, что их содержание связано с эволюционной продвинутостью исследуемого семейства. Низкое содержание зеленых пигментов у сосудистых растений этого района характерно для организмов наиболее адаптированных к экстремальным условиям высокой Арктики.

ТРАНСГЕННЫЕ РАСТЕНИЯ С МОЗАИЧНЫМИ СТЕРОИДОГЕННЫМИ СИСТЕМАМИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ И ПРИКЛАДНЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Transgenic plants with mosaic steroidogenic systems and prospects of their use for basic and applied research

Шпаковский Г.В.[1], Бердичевец И.Н.[2], Шематорова Е.К.[1], Словохотов И.Ю.[1], Халилуев М.Р.[3], Кильчевский А.В.[2], Бабак О.Г.[2], Спивак С.Г.[2,4]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Москва, Россия; gvs@ibch.ru*

[2] *Государственное научное учреждение Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь; babak_olga@mail.ru*

[3] *ФГБОУ ВПО Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева, Москва, Россия; marat131084@rambler.ru*

[4] *Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь; sve_spivak@mail.ru*

Одно из фундаментальных отличий стероидных гормональных систем животных и растений состоит в том, что у растений отсутствует локализованный в митохондриях и уникальный для Animalia цитохром $P450_{SCC}$ (CYP11A1), который, совместно с двумя другими компонентами митохондриальной электронтранспортной цепи, адренодоксином (ADX) и адренодоксинредуктазой (ADXR), катализирует гидроксилирование холестерина с превращением его в прегненолон – общий предшественник всех стероидных гормонов животных. Нами получены, а в случае двух первых видов уже всесторонне охарактеризованы трансгенные растения табака *Nicotiana tabacum* L., наперстянки *Digitalis purpurea* L. и томата *Solanum lycopersicum* L., экспрессирующие кДНК *CYP11A1* этого цитохрома из коры надпочечников быка, что явилось первым убедительным доказательством того, что даже самые эволюционно отдаленные элементы стероидогенных систем Plantae и Animalia функционально совместимы *in vivo* [Патент РФ № 2237717 // Приоритет от 20.12.2002. Зарегистр. 10.10.2004; Патент Республики Беларусь № 9201. Приоритет от 30.12.2002. Зарегистр. 25.01.2007].

Изучение четырех поколений трансгенных растений табака показало, что в сравнении с растениями дикого типа они имеют сокращенный период вегетативного развития (раннее цветение и созревание семян), увеличенную биомассу и повышенную продуктивность (количество и качество семян), а также повышенный иммунитет к таким фитопатогенам, как *Botrytis cinerea*. Изменяется и метаболизм трансгенных растений наперстянки пурпурной: нами показано, что они обладают повышенной способностью к биосинтезу кардиотонических стероидных гликозидов.

Установлено, что в трансгенных растениях синтезируется прегненолон, а содержание в них прогестерона примерно в пять раз превышает его количество в растениях дикого типа. Высказано предположение, что прогестерон, который по некоторым имеющимся данным участвует в регуляции вегетативного и генеративного развития растений, обуславливает особенности фенотипа полученных трансгенных растений табака и может рассматриваться в качестве нового гормона растительной клетки 2.

Весомыми аргументами в поддержку этой гипотезы являются недавние работы по обнаружению, характеристике и даже выделению в гомогенном состоянии прогестерона и ряда других стероидных гормонов животных из таких различных видов растений, как *Nicotiana tabacum*, *Digitalis purpurea*, *Inula helenium*, *Juglans regia* и *Adonis aleppica*. По-видимому, именно повышенный уровень эндогенного прогестерона позволяет трансгенным растениям табака, как свидетельствуют наши предварительные данные, успешно переносить (в отличие от контрольных растений дикого типа) продолжительную засуху и голодание.

Проведенная нами работа по конструированию и изучению трансгенных растений с комбинированными стероидогенными системами не только впервые продемонстрировала по-настоящему фундаментальное родство стероидогенных систем Plantae и Animalia *in vivo*, но и открывает новые горизонты как фундаментальных (поиск и анализ функций участвующих в стероидогенезе компонентов электронтранспортной цепи растительных митохондрий; изучение роли прогестерона в ретроградной сигнализации и межклеточных взаимодействиях), так и социально ориентированных (использование генов стероидогенеза животных в сельском хозяйстве для ускорения процессов роста и развития, повышения иммунитета и урожайности растений; изменение спектра синтезируемых в лекарственных растениях типа наперстянки веществ стероидной природы с возможностью получения новых, важных для фармакологии соединений) научных исследований, перспективы которых обсуждаются в докладе.

САЛИЦИЛОВАЯ КИСЛОТА ИЗМЕНЯЕТ ПРОНИЦАЕМОСТЬ ВНУТРЕННЕЙ МЕМБРАНЫ МИТОХОНДРИЙ РАСТЕНИЙ

Salicylic acid alters permeability of the inner membrane of plant mitochondria

Шугаев А.Г., Буцанец П.А., Андреев И.М., Шугаева Н.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; ag_shugaev@ippras.ru

Изучено влияние салициловой кислоты (СК) на проницаемость для протонов внутренней мембраны митохондрий, выделенных из семядолей этиолированных проростков люпина узколистого (*Lupinus angustifolius* L.) и растущих корнеплодов сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.). Исследуемые митохондрии растений отвечали основным критериям физиологической интактности, в частности, они характеризовались целостными мембранами, высокой скоростью окисления дыхательных субстратов, а также прочным сопряжением процессов окисления и фосфорилирования. Высокая функциональная активность митохондрий подтверждалась их способностью генерировать при окислении сукцината в присутствии глутамата трансмембранный градиент протонов на внутренней мембране (мембранный потенциал или дельтапси), обратимо снижать его под влиянием АДФ, а также устойчиво поддерживать потенциал в течение длительного времени. Показано, что присутствие 0,5–1,0 мМ СК в среде инкубации оказывало слабое (мягкое) разобщающее действие на дыхание митохондрий растений и вызывало вначале незначительное снижение мембранного потенциала, вследствие известных протонофорных свойств данного фитогормона. Однако, затем, после непродолжительного лаг-периода (12–15 мин) наблюдалось резкое увеличение проницаемости для протонов внутренней мембраны митохондрий, что регистрировалось по быстрой и полной диссипации (коллапсу) мембранного потенциала, которая не обращалась добавкой АТФ. При этом, длительность лаг-периода определялась временем необходимым для исчерпания кислорода в реакционной среде в ходе окисления митохондриями дыхательных субстратов, поскольку искусственная аэрация среды инкубации восстанавливала потенциал. Сами по себе условия анаэробиоза, в отсутствие СК, не приводили к коллапсу мембранного потенциала и митохондрии семядолей люпина, а также корнеплода сахарной свеклы были способны длительное время (более 60 мин) поддерживать энергизацию внутренней мембраны за счет гидролиза эндогенной или экзогенной АТФ. При использовании более высоких концентраций СК (3 мМ и выше), оказывающих заметное ингибирующее действие на дыхание митохондрий, длительность лаг-периода сокращалась и коллапс дельтапси наблюдался в условиях неполного исчерпания кислорода в среде инкубации. Показано, что деполяризация мембраны под влиянием СК в ряде опытов заметно тормозилась при инкубации органелл в присутствии ДТТ и циклоспорина А – известного ингибитора классической поры неспецифической проницаемости (PTP – permeability transition pore) во внутренней мембране митохондрий животных. На основании полученных результатов и анализа литературных данных, высказывается предположение, что при определенных условиях, в частности, при торможении работы ЭТЦ, СК способна индуцировать пермеабилизацию внутренней мембраны митохондрий растений, по-видимому, в результате активации или открытия специального разобщающего канала. Этот канал характеризуется высокой проницаемостью для протонов, возможно, он проницаем также для других низкомолекулярных катионов (K^+, Ca^{2+}) и, по-видимому, является особым состоянием (подсостоянием) функционирования PTP в митохондриях растений.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 13-04-01828).

ВЛИЯНИЕ ПРООКСИДАНТОВ НА ПРОНИЦАЕМОСТЬ ВНУТРЕННЕЙ МЕМБРАНЫ МИТОХОНДРИЙ РАСТЕНИЙ

Effect of prooxidants on permeability of the inner membrane of plant mitochondria

Шугаева Н.А., Буцанец П.А., Шугаев А.Г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия; ag_shugaev@ippras.ru

Известно, что в оптимальных условиях в клетках живых организмов, включая растения, гомеостатируется ряд ключевых параметров среды: pH, осмотичность, редокс-потенциал и др., включая уровень так называемых активных форм кислорода (АФК) – супероксида, перекиси водорода. Однако, при действии на растения различных неблагоприятных природных факторов (засухи, экстремальных температур и т.д.) происходят серьезные нарушения клеточного метаболизма, в том числе работа ЭТЦ митохондрий, что приводит к активации образования АФК и резкому повышению их уровня в клетке. При этом митохондрии являются не только одним из основных генераторов АФК в клетках растений и животных, но и весьма уязвимой мишенью для них, причем повреждению подвергаются все основные структуры этих органелл: мембраны, белки и ДНК. Наиболее серьезные последствия имеет повреждение в условиях окислительного стресса внутренней мембраны митохондрий, ответственной за поддержание мембранного потенциала (DY) и синтеза АТФ. Известно, что необходимым условием поддержания DY (дельтапси) является низкая проницаемость для протонов и других катионов и анионов внутренней мембраны митохондрий. В то же время, в этой мембране локализован целый ряд переносчиков этих ионов, причем значение некоторых из них остается не совсем понятным. В настоящее время в фокусе внимания исследователей находится изучение специального канала или поры (PTP – permeability transition pore), обеспечивающего внезапное увеличение проницаемости внутренней мембраны, в результате чего через нее могут проходить, как ионы, так и молекулы других веществ массой меньше 1,5 мДа. Постулируется, что PTP играет ключевую роль в индукции апоптоза (в клетках животных), поскольку ее открытие приводит к коллапсу DY, набуханию органелл, повреждению внешней мембраны и выходу из митохондрий цитохрома с и других проапоптозных белков. Характерной особенностью функционирования классической PTP является ее зависимость от ионов Ca^{2+} и чувствительность к циклоспорину А. Вопрос о регуляции PTP со стороны АФК остается открытым. При этом, в ряде работ было показано, что под влиянием прооксидантов, моделирующих действие окислительного стресса, происходит индукция в митохондриях не классической PTP (высоко-проводящего канала), а ее подсостояния (низко-проводящего канала), проницаемого только для протонов и нечувствительного к действию циклоспорина А. Особенности функционирования PTP в митохондриях растений, механизмы ее регуляции, включая действие АФК и прооксидантов остаются малоизученными, что и явилось целью данной работы.

В работе было изучено влияние перекиси водорода (H_2O_2) и фениларсин оксида (ФАО) на проницаемость для протонов внутренней мембраны митохондрий, выделенных из семядолей этиолированных проростков люпина узколистого (*Lupinus angustifolius* L.) и растущих корнеплодов сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.). Исследуемые митохондрии растений отвечали основным критериям физиологической интактности, в частности, они характеризовались целостными мембранами, высокой скоростью окисления дыхательных субстратов, а также прочным сопряжением процессов окисления и фосфорилирования. Высокая функциональная активность митохондрий подтверждалась их способностью генерировать DY при окислении дыхательных субстратов (сукцината в присутствии глутамата), обратимо снижать его под влиянием АДФ, а также устойчиво поддерживать потенциал в течение длительного времени. За генерацией DY следили по изменению разности поглощений сафранина О на спектрофотометре Hitachi-557.

Результаты показали, что перекись водорода в широком диапазоне концентраций не оказывала заметного влияния на величину мембранного потенциала, и митохондрии семядолей люпина, а также корнеплода сахарной свеклы были способны длительное время (более 40 мин) поддерживать энергизацию внутренней мембраны. Вместе с тем при инкубация митохондрий растений в присутствии ФАО, моделирующего действие окислительного стресса на тиоловые группы белков, после кратковременного (8-10 мин) лаг-периода наблюдалось резкое увеличение проницаемости для протонов внутренней мембраны митохондрий, что регистрировалось по быстрой и полной диссипации (коллапсу) DY. Деполяризация внутренней мембраны митохондрий под влиянием ФАО стимулировалась в присутствии экзогенного Ca^{2+}, была не чувствительна к циклоспорину А, и полностью обращалась в присутствии восстановителя тиоловых групп – ДТТ. Предполагается, что условия, моделирующие действие окислительного стресса на митохондрии, и вызывающие окисление тиоловых групп мембранных белков, способны индуцировать пермеабилизацию внутренней мембраны митохондрий растений. Вероятно это происходит в результате активации или открытия в ней специального разобщающего канала, в состав которого входят белки чувствительные SH-реагентам. Этот канал характеризуется высокой проницаемостью для протонов, и, по-видимому, является особым подсостоянием функционирования PTP в митохондриях растении.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 13-04-01828).

ВЛИЯНИЕ БИОРЕГУЛЯТОРОВ ГЛИКОЗИДНОЙ ПРИРОДЫ НА ПРОДУКТИВНОСТЬ ЗЛАКОВЫХ КУЛЬТУР

Effect of glycosidic bioregulators on the productivity of cereal crops

Шуканов В.П.[1], Корытько Л.А.[1], Полякова Н.В.[1], Манжелесова Н.Е.[1], Мельникова Е.В.[1], Мащенко Н.Е.[2], Боровская А.Д.[2]

[1] *Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси, Минск, Беларусь*
patphysio@mail.ru

[2] *Институт генетики, физиологии и защиты растений АН Молдовы, Кишинев, Республика Молдова*

Стероидные гликозиды выполняют важные функции в растительном организме, являясь компонентами клеточных мембран, обладая гормональной активностью, принимая участие в процессах роста, развития и продуктивности. Ростовая активность стероидных гликозидов изменяется в онтогенезе растений в направлении от прорастания семян до формирования генеративных органов, соответственно от ингибирующей до ростостимулирующей, за счет непрерывного изменения эндогенной концентрации самих гликозидов и содержания сопутствующих им фитогормонов и фенольных веществ. Также эти соединения можно рассматривать как естественный фактор защиты растений от фитопатогенов.

Ранее проведенные исследования действия препаратов гликозидной природы на метаболические процессы в тканях растений, а также изучение степени развития и распространения болезней выявило их положительное влияние на повышение болезнеустойчивости злаков. Целью настоящей работы было исследование действия этих веществ на продуктивность зерновых культур. Нами рассмотрены три новых биорегулятора гликозидной природы, выделенных из растений сем. *Scrophulariaceae:* скрофуларозид (*Scrophularia nodosa*), вербаскозид (*Verbascum phlomodes*) и линарозид (*Linaria genistofol*), а также препарат экостим (получаемый из семян томатов), которые использовали в концентрациях 10 мг/л и 50 мг/л. Объектами исследований служили растения яровой пшеницы и ярового ячменя. Посевы зерновых культур обрабатывали исследуемыми препаратами в фазу кущения или в фазу выхода в трубку.

Установлено, что под воздействием обработки растений пшеницы в фазу кущения препаратами линарозид и скрофуларозид не наблюдается достоверного повышения продуктивности культуры. Биорегуляторы положительно влияли только на длину стебля растений (увеличение на 10-15%) и массу соломы (на 10-30% в зависимости от варианта). При этом продуктивная кустистость и число зерен в колосе в обработанных вариантах были близки к контрольным значениям. Масса колосьев и масса 1000 семян при воздействии линарозида также существенно не изменялась, тогда как под влиянием скрофуларозида снижалась на 15-20%. Обработка посевов пшеницы в фазу выхода в трубку препаратами вербаскозид и экостим не оказывала существенного влияния на длину стебля. Однако масса соломы 10 растений пшеницы возрастала под действием обработок на 6-13%, за исключением варианта с препаратом экостим 50 мг/л, где данный показатель снижался на 13% по сравнению с контрольным уровнем. Также под влиянием обработок препаратом вербаскозид в обеих концентрациях и препаратом экостим в концентрации 10 мг/л возрастала масса колоса на 15-30%, озерненность колоса при этом была близка к контрольному значению. Экостим (50 мг/л) не влиял на массу колоса пшеницы, но повышал озерненность на 10%. Оба биорегулятора увеличивали массу 1000 зерен у пшеницы – на 9-13%.

При обработке растений ячменя (фаза кущения) препаратами линарозид и скрофуларозид наблюдалось увеличение продуктивной кустистости (на 15-20%) и массы колосьев с 10 растений (на 20-25%). Масса 1000 зерен в вариантах, где применялся линарозид, оставалась на контрольном уровне, а масса одного колоса увеличивалась на 15% за счет повышения его озерненности. В вариантах, обработанных препаратом скрофуларозид масса колоса, озерненность и масса 1000 семян были близки к контрольным значениям. Обработка посевов ячменя в фазу выхода в трубку биорегуляторами вербаскозид и скрофуларозид слабо влияла на длину стебля. Однако у ячменя наблюдалось значительное увеличение массы соломы – на 45-75%, причем концентрация препаратов 10 мг/л оказалась эффективнее, чем 50 мг/л. Прибавка массы соломы происходила за счет повышения кустистости растений. Все обработки увеличивали массу колоса, наибольший эффект оказывал экостим в концентрации 10 мг/л, вызывая прибавку в 45%. Также во всех вариантах обработок ячменя наблюдалось увеличение озерненности колоса и массы 1000 зерен.

Из оценки структуры урожая исследуемых злаков можно сделать вывод, что для повышения продуктивности пшеницы возможно применение препаратов вербаскозид и экостим в концентрации 10 мг/л, для ячменя эффективным был препарат экостим в концентрации 10 мг/л. Обработку посевов биорегуляторами гликозидной природы необходимо проводить в фазу выхода в трубку, поскольку в более ранние фазы развития зерновых культур (например, в фазу кущения) она в большей степени влияет на вегетативный рост растений, чем на их продуктивность.

Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ (№Б13МЛД–005).

О НОВОМ КРИТИЧЕСКОМ РАДИАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ В ОНТОГЕНЕЗЕ ЗЛАКОВ И ЕГО РЕГУЛЯТОРНОЙ РОЛИ В ПРОДУКЦИОННОМ ПРОЦЕССЕ

On the new critical radiation period in the onthogenesis of cereals (grasses) and its regulatory role in the production process

Шульгин И.А., Простокишина Е.П.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия; ufarin@yandex.ru

Со времен К.А. Тимирязева и П.И. Броунова (1886-1896 гг.) под понятием «критический период» (КП) у растений понимается период, в течение которого растения особенно чувствительны к воздействию неблагоприятных гидротермических условий, приводящих к меньшей, чем возможно, урожайности. Наличие таких КП учитывается в агрометеорологической оценке состояния и прогноза урожайности сельскохозяйственных культур.

Вопрос о возможных КП по отношению к интенсивности физиологически активной солнечной радиации (ФиАР, 380-750 нм) был впервые экспериментально рассмотрен нами в 1986 г., и затем на яровых злаках было показано наличие нескольких четко проявляемых критических радиационных периодов (КРП) при снижении прихода лучистой энергии в течение 3-5 суток.

Такое влияние ФиАР в первый КРП – 3-5 дневный период («всходы- второй лист») проявляется, прежде всего, в детерминации изменяющейся («ухудшающейся») архитектуры стебля и, в итоге, колоса. Это влияние реализуется в ходе оптимизации соотношения фотосинтеза и дыхания целого растения. Результат действия ФиАР обусловлен снижением ее интенсивности главным образом в утренне-вечерние сумерки физиологического дня и связан с процессами фотоморфогенеза (Шульгин, 2004, 2009). При этом снижение ФиАР может в конечном итоге «уменьшать» урожайность на 30-50%.

Аналогичный КРП был выявлен нами и у озимой пшеницы, имеющий место весной с момента возобновления их вегетации при увеличении длины дня.

Второй КРП – это 3-5 дневный период «предцветения», в течение которого растение негативно реагирует на снижение интенсивности ФиАР, причем опять же во время сумерек, а не всего светового дня.

Высказанное нами положение, что снижение прихода ФиАР в сумерки «автоматически» (чисто физически) укорачивает общий фотопериод с интенсивностью радиации выше физиологического порога чувствительности растений, было подтверждено опытами, в которых более короткий день (без сумерек) в КРП оказывал подобное негативное действие, за счет чего урожайность яровой пшеницы «снижалась» на 20-35%.

При оценке урожайности растений (по числу, массе и размерам зерновок в колосьях) одновременно, с применением компьютерных методик, исследована утомляемость зрительной системы у студентов с нормальной остротой зрения. Утомление проявлялось сильнее при анализе колосьев с более гетерогенными зерновками.

Подчеркивается, что в КРП снижение прихода ФиАР к растениям может выступать как регуляторно-информационный фактор морфогенеза, «указывающий» растениям на «неожиданное» ухудшение условий в течение дня и «требующий» от них адаптивных изменений.

СОЛНЕЧНАЯ РАДИАЦИЯ И АГРОМЕТЕОРОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ПОСЕВОВ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР И ИХ УРОЖАЙНОСТИ

Solar radiation and agrometeorological assessment of the state and capacity of crops

Шульгин И.А[1], Страшная А.И.[2]

[1] *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия; ufarin@yandex.ru*

[2] *Федеральное государственное бюджетное учреждение «Гидрометеорологический научно-исследовательский центр РФ», Москва, Россия*

Современная агрометеорология (АМ) – научно-прикладная дисциплина – как и столетие назад, со времен К.А Тимирязева, А.И. Воейкова, П.И. Броунова, базируется на двух «китах» - физиологии растений и метеорологии, позволяющая оценивать текущее состояние растений и, в соответствии с ожидаемыми метеоусловиями, прогнозировать динамику их дальнейшего роста и урожайность.

В современной АМ, как и сто лет назад, рассматриваются в основном два фактора – тепловой и водный режимы воздуха и почвы (с различными их характеристиками) и их влияние на физиологические процессы, на рост, органогенез, репродуктивное развитие, включая в итоге формирование хозяйственно ценной фитомассы.

Между тем, основной энергетический и регуляторно-информационный фактор в деятельности растений – солнечная радиация (СР) – остается в АМ практически не учитываемым, особенно в оперативной работе,хотя в учебниках и пособиях по АМ отмечается ее важное значение, основанное на теоретических и экспериментальных сведениях из физиологии растений.

В качестве обоснования отсутствия необходимости учета прихода, поглощения и использования солнечной радиации (ФиАР и ФАР) в АМ принимаются «постулаты» о том, что, во-первых, СР не является лимитирующим рост фактором; во-вторых, мало изменчива; и, в-третьих, если она и изменяется, то это адекватно проявляется в изменчивости термического режима. «Лукавство» таких постулатов заключается, во-первых, в том, что принимаемая «стабильность» прихода СР в том или ином регионе – это не что иное, как отсутствие его многолетнего тренда; во-вторых, игнорируется реальный изменчивый приход СР в отдельные годы; в третьих, не принимается во внимание то, что в данный год (месяц, декаду, день) и в данном регионе тепловой режим может обуславливаться адвективным фактором, независимо от прихода СР в этот период.

К примеру, в Московском регионе тренды многолетних значений суммарной коротковолновой радиации и ФАР отсутствуют при реальной межгодовой их изменчивости (варьирующей, к примеру, в июле от 15 до 2 МДж/($м^2$ сут)), влияющей на интенсивность фотосинтетической деятельности, особенно в «критические радиационные периоды» в частности такие, как «всходы-второй лист» у яровых злаков.

Из сказанного следует, что для многих задач, решаемых в АМ, существует необходимость использования детальной информации о приходе СР к посевам, о ее продуктивных ресурсах, тем более, что на сети актинометрических станций ГГО им. А.И. Воейкова ведется многолетняя регулярная регистрация часовых сумм СР. Это информация позволяет: а) рассчитать, с учетом среднемноголетних значений, приход ФАР за период активной фотосинтетической деятельности культур, поглощенную ФАР и, с учетом КПД ФАР на осуществление газообмена и суточных приростов биомассы посева, оценить радиационно-обусловленную возможную урожайность в климатически оптимальных гидротермических условиях роста; б) рассчитать необходимые для создания такой биомассы и транспирации запасы продуктивной влаги (ЗПВ) в почве; в) на основе данных о реальном приходе ФАР в текущий период (декада, фаза, этап органогенеза) и о ЗПВ в том или ином слое почвы можно рассчитать их соотношение с многолетними значениями и тем самым получить данные об ожидаемой урожайности, т.е. использовать их в агрометеорологической оценке и прогнозах урожайности сельскохозяйственных культур.

ЛОКАЛИЗАЦИЯ ЛИПИДОВ В ТКАНЯХ СТВОЛА КАРЕЛЬСКОЙ БЕРЕЗЫ В ПРОЦЕССЕ РАЗВИТИЯ УЗОРЧАТОСТИ ДРЕВЕСИНЫ

Localization of lipids in Karelian birch trunk tissues during the formation of figured wood

Шуляковская Т.А., Ильинова М.К.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт леса Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия; tashulyak@gmail.com

Betula pendula var. *carelica* (Mercklin) Hämet-Ahti – карельская береза – ценное растение, которое знаменито своей узорчатой древесиной. По флоэме осуществляется транспорт продуктов фотосинтеза к местам их потребления и, в частности, в камбиальную зону, являющуюся в период утолщения ствола одним из основных акцепторов ассимилятов. Синтез жирных кислот и затем жиров происходит из сахаров, образовавшихся в процессе фотосинтеза. Целью работы было изучение содержания суммарных липидов и их фракций в стволовой части карельской березы *Betula pendula* var. *carelica* (Mercklin) Hämet-Ahti в сравнении с березой пушистой *B. pubescens* Ehrh. и березой повислой *B. pendula* Roth, выяснение особенностей липидного состава тканей ствола при образовании узорчатой древесины. Объектами исследований были взрослые 40-летние деревья березы пушистой, березы повислой и карельской березы. Карельская береза и береза повислая – две формы одного вида, а береза пушистая – представитель другого вида. Проводили исследования в однолетних сеянцах этих же видов и форм, выращенных в одной теплице из сертифицированных семян от контролируемого опыления, закупленных в Финляндии в фирме Forelia OY. Из таких же семян были выращены 7-летние растения карельской березы, а среди них к указанному возрасту выделились особи с аномальным развитием ствола, которое выражалось в появлении утолщений на стволах и узорчатости в древесине. На этих объектах изучали участки стволов с разной степенью узорчатости древесины в сравнении. Образцы коры и древесины берез отбирали в фазу активной деятельности камбия. Данные были получены с использованием оборудования Центра коллективного пользования «Аналитическая лаборатория» ИЛ КарНЦ РАН.

Проведенное исследование количества суммарных липидов в стволовой части взрослых деревьев березы пушистой, березы повислой и карельской березы показало значительное преимущество этих соединений в коре карельской березы. Древесина карельской березы также отличалась более высоким уровнем суммарных липидов, особенно по сравнению с березой пушистой. Сравнение содержания отдельных фракций липидов в древесине берез показало преобладание нейтральных липидов и фосфолипидов у карельской березы. Напротив, гликолипиды в древесине карельской березы находились в наименьшем количестве. В коре отмечено значительное преимущество нейтральных липидов и заметное преобладание гликолипидов у карельской березы по сравнению с березой пушистой и березой повислой. Если сравнить содержание отдельных фракций в коре и древесине каждой из берез, то получается, что у карельской березы наибольшее преобладание коры над древесиной в нейтральных липидах (в 3,3 раза) и особенно в гликолипидах (в 16 раз), а в фосфолипидах наибольшее преимущество древесины над корой по сравнению с другими березами. Если в коре карельской березы гликолипиды составили около половины всех липидов (46,3% от суммарного количества), а фосфолипиды лишь 6,7%, то в древесине картина иная: гликолипиды – 10,4%, а фосфолипиды – 38% от общей суммы. Т.е., у карельской березы из мембранных липидов в коре выше доля гликолипидов, а в древесине – фосфолипидов. Исследования тканей стволика однолетних сеянцев берез показали, что у карельской березы на раннем этапе онтогенеза происходило накопление суммарных липидов в начале (в июне) в коре, а потом в древесине (июль). Разделение суммарных липидов на фракции в июльских образцах древесины сеянцев продемонстрировало преимущество карельской березы над двумя другими березами по содержанию всех трех фракций: нейтральных липидов, гликолипидов и фосфолипидов у нее было в 2 с лишним раза больше, чем у других объектов, и только в сеянцах карельской березы наблюдалось преобладание древесины над корой по количеству фосфолипидов. Были проведены исследования 7-летних деревьев карельской березы с различной степенью узорчатости древесины по стволу: в верхней части ствола под кроной слабая узорчатость, в нижней части – хорошо выраженная. С увеличением узорчатости древесины ствола наблюдался рост содержания нейтральных липидов (запасных) и мембранных липидов в ней. Сравнение коры и древесины узорчатых участков ствола продемонстрировало преимущество коры по количеству гликолипидов в 3,6 раза по сравнению с древесиной тех же участков, и древесины над корой по содержанию фосфолипидов в 2,6 раза. По аналогии с взрослыми деревьями, среди которых карельская береза с узорчатой древесиной отличалась повышенным содержанием гликолипидов в коре ствола, а фосфолипидов в древесине, 7-8-летние деревья карельской березы с формирующейся узорчатостью ствола продемонстрировали такое же распределение фракций липидов между участками с разной степенью узорчатости. 1-летние сеянцы березок во второй вегетационный период их жизни при отсутствии внешних отличий в строении стволиков проявили различия в показателях липидного обмена, похожие на взрослые растения. В онтогенезе карельской березы с самого раннего этапа формирования дерева наблюдались особенности распределения липидов по тканям ствола, свойственные взрослым растениям с характерными признаками вида и формы.

ПЛАСТИЧНОСТЬ НАКОПЛЕНИЯ ФЛАВОНОИДОВ РАСТЕНИЯМИ ЮЖНОГО ЗАУРАЛЬЯ КАК ОТВЕТ НА РАЗНООБРАЗИЕ УСЛОВИЙ ИХ МЕСТООБИТАНИЙ

Plasticity of South Ural plants flavonoids accumulation as a response to a variety of conditions in their habitats

Щербаков А.В., Усманов И.Ю., Фаезова Г.Ф.

ФГБОУ ВПО Башкирский государственный университет, Уфа, Россия; Humanist314@rambler.ru

Южное Зауралье характеризуется большим набором ландшафтных, почвенных и биологических параметров, который позволяет определить этот регион как эндемичный. Экосистемы Южного Зауралья в полной мере обладают ландшафтным и трофическим разнообразием. Кроме того, территория Южного Зауралья характеризуется многочисленными геохимическими аномалиями. В почвах и подпочвенных породах отмечены резкие колебания Cu, Zn, Co, Cd, Fe, S, Na, Ni, Pb, B, Mg, As Mn и др.

В этих условиях адаптации растений обеспечиваются через независимый запуск первичных адаптивных реакций (ПАР). При большом числе первичных адаптивных реакций число их комбинаций может быть очень велико. Большое число ПАР и возможность их независимой реализации делает возможным формирование альтернативных сценариев повышения надежности и адаптивности растения.

Флавоноиды играют важную роль в защите растений от различных стрессов, вызванных неблагоприятными условиями окружающей среды. Несмотря на всеобщее признание адаптивной роли флавоноидов, общепринятая схема регуляции их накопления условиями среды не разработана.

Цель работы: изучить межвидовую, межпопуляционную и внутрипопуляционную пластичность накопления флавоноидов растениями в эколого-ценотических условиях Южного Зауралья.

Объектами полевых исследований служили следующие виды растений, собранные на территории Бамакского, Хайбуллинского, Белорецкого, Кугарчинского и Зилаирского районов РБ: *Juniperus sabina* L. - можжевельник казацкий; *Achillea nobilis* L. - тысячелистник благородный*; Achillea millefolium* L. - тысячелистник обыкновенный*; Glycyrrhiza korshinskyi* Grig. - солодка Коржинского;

Хроматографический анализ флавоноидов методом ВЭЖХ проводили на системе Waters Breeze со спектрофотометрическим детектором на длине волны 254 и 275 нм. Калибровку проводили с применением соответствующих стандартов соединений («Sigma-Aldrich»). Полярографическое определение Cu, Zn, Cd, Mn, Ni, Co, Mo, As и других тяжелых металлов в образцах почвы и растений определялось методом обратной полярографии на приборе «Полярограф Экотест-2». Уровень содержания Na, Fe, S, B, Al в верхнем горизонте (0-20 см) почвы определяли в водной вытяжке пробы (100 мг) на атомно-абсорбционном спектрометре (Hitachi 207, Japan).

Показано, что химический состав местобитаний растений может кардинально различаться при любых расстояниях между ними – как на расстояниях в несколько десятков километров, так и на расстояниях в несколько метров. Также показано варьирование содержания химических элементов в пределах геохимических провинций Южного Зауралья относительно среднестатистических показателей их содержания в литосфере - Кларков. В этих условиях у растений было обнаружено от 10 до 35 отдельных флавоноидов, в зависимости от вида, среди которых были идентифицированы кверцетин, дигидрокверцетин рутин, нарингин, нарингенин, физетин, морин, гесперетин и байкалеин. У всех исследованных видов были зарегистрированы значительные внутри – и межпопуляционные различия в накоплении флавоноидов. При этом у всех исследованных видов не были обнаружены хроматограммы, полностью совпадающие по числу пиков соответствующих соединений, таким образом, химический состав каждого индивидуального растения в отдельном местообитании может быть уникален.

Межвидовые различия накопления флавоноидов у исследованных видов:

J. sabina. Из 33 зарегистрированных флавоноидов только 2 соединения (6%) обнаружены у единичных растений, в то же время количество обнаруженных у всех растений флавоноидов составило 10 (30%);

G. korshinskyi. Из 30 зарегистрированных флавоноидов половина соединений обнаружена у единичных растений, в то же время количество обнаруженных у всех растений флавоноидов составило 7 (23%);

A. nobilis. Данный вид по вышеперечисленным показателям занимает промежуточное положение: всего зарегистрировано 22 флавоноида, из которых у единичных растений обнаружено 4 (18,2%). При этом количество обнаруженных у всех растений флавоноидов составило 5 (22%).

Полученные данные были интерпретированы, как характерное для растений проявление принципа независимости формирования отдельных адаптивных и нейтральных реакций на меняющиеся условия среды и функционирования в растениях децентрализованных схем управления морфофизиологическими параметрами.

СОЗДАНИЕ НОВЫХ СОРТОВ ЯЧМЕНЯ МЕТОДАМИ БИОТЕХНОЛОГИИ И РЕЗУЛЬТАТЫ ОЦЕНКИ ИХ ХОЗЯЙСТВЕННОЙ ЦЕННОСТИ

Creation of new barley varieties by biotechnology methods and results of the evaluation of their practical value

Шуплецова О.Н.[1], Широких И.Г.[1,2]

[1] *Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Зональный научно-исследовательский институт сельского хозяйства Северо-Востока им. Н.В. Рудницкого», Киров, Россия; olga.shuplecova@mail.ru*

[2] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, Киров Россия; irgenal@mail.ru*

Для целенаправленного создания сортов ячменя, обладающих хозяйственно ценными свойствами, использовали методы клеточной инженерии, ускоряющей и расширяющей процесс отбора ценных форм в результате сомаклональной изменчивости, возникающей в культуре каллусной ткани. Разработаны эффективные схемы отбора in vitro устойчивых каллусных линий ячменя на селективных средах с ионами H^+, Al^{3+}, Mn^{2+}, Cd^{2+} и полиэтиленгликолем в качестве осмотика. Селективные агенты вносили на этапах пролиферации и морфогенеза каллусной ткани раздельно и в различных комбинациях - для получения форм с комплексной устойчивостью. В настоящее время созданы сомаклональные линии, устойчивые к ионной токсичности металлов и осмотическому стрессу, а также к их комплексному воздействию. Отмечено явление кросс-адаптации, а именно появление у линий, полученных в результате отбора *in vitro* на устойчивость к алюминию, устойчивости к осмотику, а также резистентности к поражению фитопатогенными грибами.

Семенное потомство растений-регенерантов оценивали на стрессоустойчивость в лабораторных и вегетационных опытах. По показателю индекса длины корней (ИДК) сравнение регенерантов (ИДК 1,0-1,3) с исходными формами (ИДК 0,4-0,5) выявило его устойчивое повышение в стрессовых условиях, обусловленных токсичностью алюминия в кислой среде и повышенным осмотическим давлением. Оценка полученных в селективных системах сомаклональных линий по интенсивности перекисного окисления липидов, содержанию антоцианов и аскорбиновой кислоты в листьях, показателям CO_2/H_2O-газообмена выявила существенные положительные изменения в уровне накопления листьями низкомолекулярных антиоксидантов и в интенсивности видимого фотосинтеза, транспирации и эффективности использования воды листьями ячменя в результате проведения через культуру каллуса и, особенно, в результате использования селективных систем in vitro. При выращивании сомаклональных линий в вегетационных опытах на провокационном фоне ($pH_{сол}$ 3,8-4,1, содержание Al^{3+}12,78 мг/100 г почвы) их преимущество, по сравнению с исходными формами, а также стандартными сортами, было обусловлено повышением всхожести (в среднем на 12%), увеличением продуктивной кустистости (на 21%), озерненности колоса (в 2,3 раза), массы зерна с растения (в 1,5 раза). Вместе с тем, отмечена тенденция к снижению (до 30%) высоты растений сомаклональных линий по сравнению с исходными генотипами, что может затруднять технологический процесс их уборки. Наряду с изменением продуктивных признаков у регенерантных форм выявлена повышенная средообразующая способность корневой системы, что проявлялось в оптимизации кислотности в зоне корней (сдвиг в щелочную сторону до 1,5 ед. pH) на кислом фоне.

Оценка хозяйственной ценности сомаклональных линий в практической селекции привела к тому, что в период 2007-2014 гг. доля сортов-регенерантов достигла 50%, а сортов, полученных путем скрещивания с регенерантными линиями - 22% от всех изучаемых в конкурсном сортоиспытании образцов. Десять сортов регенератного происхождения на протяжении ряда лет стабильно обеспечивали на 10,0-43,2% более высокую урожайность, чем стандартные сорта. Наряду с устойчивостью к абиотическим стрессам, сорта ячменя регенерантного происхождения зачастую выделялись более низкой степенью поражения фитопатогенными грибами (фузариозно-гельминтоспориозные корневые гнили, полосатая и сетчатая пятнистость). В результате иммунологической оценки на инфекционном фоне сомаклональных линий выделены генотипы, у которых степень поражения болезнями была достоверно ниже в сравнении со стандартными сортами.

Преимущество созданного в селективной системе с ионами H^+ и Al^{3+} и осмотиком, на основе сомаклона 496-07 сорта Бионик (7,33 т/га) проявилось особенно наглядно на провокационном по кислотности фоне (pH 4,2) в условиях аномально жаркого и засушливого 2010 г. Прибавка к стандарту Биос 1 составила 1,73 т/га (36%). Сорт характеризуется высокой урожайностью (в среднем 5,77 т/га) в сочетании с устойчивостью к пыльной головне как на естественном, так и на искусственном инфекционных фонах.

В 2014 г. передан на Государственное сортоиспытание созданный на основе сомаклона 917-01 сорт Форвард, характеризующийся сочетанием высокой урожайности (3-6 т/га) с устойчивостью к полосатой и сетчатой пятнистости, корневым гнилям, поражению шведской мухой. Превышение над стандартом для него составило на нейтральном фоне 0,3 т/га, на стрессовом фоне (pH 3,8-4,5; Al^{3+} 0,5-9,6 мг/100г почвы) - 0,5 т/га.

Одиннадцать сомаклональных линий ячменя, являющихся генетическими источниками толерантности к засухе и повышенному содержанию ионов водорода и алюминия в почвенном растворе, включены в предварительный каталог коллекции ВИР им. Н.И. Вавилова.

ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ МЕТАБОЛИЗМ УГЛЕРОДА ГЕНОТИПОВ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ ХЛОРИДНОГО ЗАСОЛЕНИЯ ПОЧВЫ

The photosynthetic carbon metabolism in genotypes of wheat under soil chloride salinity

Эргашев А.Э., Джумаев Б.Б., Атоев М.Х

Институт ботаники, физиологии и генетики растений Академии наук Республики Таджикистан, Душанбе, Таджикистан; irshod1987@mail.ru

Фотосинтез является главным элементом продукционного процесса растений и подвергается влиянию различных факторов внешней среды, характерных для их местообитания. Хотя действие факторов внешней среды на фотосинтез носит сопряженный характер, среди них может быть выделен ведущий экологический фактор, влияние которого определяет направление изменений фотосинтеза. Определение ведущего фактора и зависимости от него изменения фотосинтеза открывает возможность выявить адаптационные способности растений, опираясь на данные о величине и характере изменения фотосинтеза (Кершанская, 2007).

В тезисе рассматривается влияние солевого стресса (0,5% NaCl) на фотосинтетический метаболизм углерода у флаговых листьев разных генотипов пшеницы. Нами было установлено, что под влиянием хлоридного засоления почвы у изученных сортов пшеницы происходят качественные и количественные изменения по включению ассимилированного меченого углерода – ^{14}C в продукты фотосинтеза. Об этом свидетельствует факт большего включения ^{14}C в C_4 – продукты фотосинтеза и интермедиаты гликолатного пути (ИГП) под воздействием хлоридного засоления почвы.

Из полученных нами данных видно, что засоление, как абиотический фактор, по-разному влияет на скорость включения ^{14}C в продукты фотосинтетического метаболизма углерода. У всех изученных сортов пшеницы скорость включения ^{14}C в сахарозу у растений опытного варианта преобладает над растениями контрольного варианта, т.е. почти 50% ассимилированного меченого углерода обнаруживался в данном продукте у растений, выращенных в условиях засоления. Таким образом, хлоридное засоление оказало существенное влияние на включение меченого углерода в сахарозу, что является одним из ответных реакций растений на солевой стресс.

Выявлено, что в контрольном варианте меченый углерод у всех изученных сортов больше сосредотачивается в ФГК – как ранний продуктов цикла Кальвина и ФЭС (фосфорных эфиров сахаров) по сравнению с растениями опытного варианта. Включение меченого углерода в глицин, серин и аланин у растений опытного варианта заметно больше.

Сравнительный анализ включения ^{14}C в интермедиаты восстановительного пентозофосфатного цикла (ИВПЦ), сахара, интермедиаты гликолатного пути (ИГП) и продукты ФЕП-карбоксилирования показал, что хлоридное засоление существенно повлияло на их соотношение. У всех изученных сортов в условиях почвенного засоления ^{14}C больше сосредотачивалось в сахарах, ИГП и ФЕП-продуктах. Следует отметить, что в контрольном варианте меченый углерод больше включался в ИВПЦ. Количественные изменения по включению меченого углерода в продукты фотосинтеза под влиянием хлоридного засоления, по-видимому, происходят за счет изменения микросреды в фотосинтетическом аппарате, связанной с изменением pH, концентраций ионов, активности и содержания соответствующих ферментов, недостатком НАДФ·Н и с другими факторами, которые участвуют в процессе фотосинтеза. Показано, что адаптация к солевому стрессу на уровне целого растения происходит путем значительного накопления пролина и НАДФ, регулирующих образование активной формы кислорода (АФК) и перекисного окисления липидов (ПОЛ). С другой стороны, количественные изменения по включению меченого углерода в разные продукты фотосинтеза под влиянием хлоридного засоления имеют адаптивный характер. К таковым можно отнести продукты ФЕП-карбоксилирования, сахарозу и ИГП.

Как ответная реакция у растений опытного варианта активируется процесс ФЕП-карбоксилирования, в результате которого значительное количество меченого углерода сосредотачивается в C_4-продуктах. Активное включение метки в продукты ФЕП-карбоксилирования и ИГП углеродного метаболизма при фотосинтезе носит адаптивный характер, то есть они активируются при стрессовых условиях среды. По видимому, хлоридное засоление, активируя реакцию оксигенирования РБФК/О, одновременно подавляет активность реакции карбоксилирования, в результате чего значительная доля ^{14}C включается в продукты ИГП, то есть усиливается процесс фотодыхания. В условиях засоления (высокая концентрация NaCl) интенсивность фотосинтеза падает, интенсивность дыхания повышается, и при этом усиливается углеводная направленность метаболизма. Об этом свидетельствует большее включение ^{14}C в сахарозу в варианте хлоридного засоления.

СТРУКТУРНАЯ АДАПТАЦИЯ МЕЗОФИЛЛА ЛИСТА СТЕПНЫХ РАСТЕНИЙ ЮЖНОГО УРАЛА К АРИДНОМУ СТРЕССУ

Structural adaptation of leaf mesophyll of steppe plants in South Urals to arid stress

Юдина П.К., Иванова Л.А., Ронжина Д.А., Ершова Е.В., Иванов Л.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ботанический сад Уральского отделения Российской Академии наук, Екатеринбург, Россия; polina.yudina@botgard.uran.ru

Исследование структурно-функциональных характеристик листа растений вдоль климатических градиентов – один из способов выявления механизмов адаптации растений к климату. Группы видов, выделенные по определенным характеристикам – функциональным типам, могут реагировать на изменение климатических условий сходным образом. Нами изучены структурные и биохимические характеристики фотосинтетического аппарата у 79 видов степных растений Среднего и Южного Урала в пяти районах, расположенных вдоль широтного градиента от 56˚с.ш. до 50˚с.ш. Районы исследований находились в разных растительных подзонах – лесостепь, северная степь, средняя степь. С севера на юг увеличивался уровень инсоляции и двукратно снижался индекс аридности (от 40 до 19). В каждом районе изучены доминанты, субдоминанты и часто встречающиеся виды, в совокупности, занимающие не менее 70% от общего проективного покрытия сообщества. Исследования проводили с помощью методики мезоструктуры листа. Разнообразие листовых параметров и количественных показателей мезофилла анализировали с учетом влияния нескольких факторов: географическое положение на трансекте (климатический фактор), структурно-функциональный тип листа, систематическое положение вида. Систематическое положение видов влияло на варьирование листовых параметров на уровне классов и семейств. Однодольные, представленные в основном злаками, отличались от двудольных по морфологическим параметрам листа – толщине, удельной поверхностной плотности, объемной плотности листа. Представители семейств *Rosaceae* и *Fabaceae* отличались мелкими размерами клеток мезофилла и тонкими листьями. В то же время, интегральные показатели мезофилла – число хлоропластов в единице площади листа, площади поверхности клеток и хлоропластов – не зависели от систематического положения видов, а в большей степени были связаны со структурно-функциональным типом листа и климатом. Виды с изопалисадным типом строения мезофилла по сравнению с растениями с дорзовентральным мезофиллом обладали более высокими значениями общей поверхности фотосинтетических клеток и хлоропластов на единицу площади листа, а также числа хлоропластов на единицу площади листа. При этом, при усилении аридности климата вдоль географической трансекты происходило изменение соотношения структурно-функциональных типов листьев: в лесостепи преобладали растения с дорзовентральным строением мезофилла, в степной зоне – с изопалисадным, а в южной точке градиента наблюдали максимальное разнообразие структурных типов листьев и появление C_4-видов с кранц-анатомией. Нами не выявлено изменений размеров листьев и толщины листьев вдоль трансекты, а характер изменения удельной поверхностной плотности листа был нелинейным. Отсутствовали также значимые изменения концентрации и размеров клеток. В то же время, выявлено увеличение общей поверхности клеток мезофилла в степной зоне по сравнению с лесостепной, что, вероятно, связано с необходимостью увеличения поверхности для внутрилистовой абсорбции CO_2 при усилении аридности климата. Таким образом, было показано, что адаптация степных растений к аридному стрессу является комплексной, связана со сменой преобладающих структурно-функциональных типов листьев, а на уровне фотосинтетических тканей заключается в изменении интегральных параметров трехмерной структуры мезофилла.

Работа поддержана РФФИ (№ 11-04-00435) и грантом Президиума УрО РАН (№ 13-4-НП-528).

ВЛИЯНИЕ 6-БЕНЗИЛАМИНОПУРИНА НА ТИРОЗИНОВОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ БЕЛКОВ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ ОБЕЗВОЖИВАНИЯ

Effect of 6-benzylaminopurine on tyrosine phosphorylation of wheat seedlings proteins under dehydration

Юлдашев Р.А.[1], Авальбаев А.М.[1], Федорова К.А.[1], Петрова Н.В.[2], Федина Е.О.[2], Гильманова Р.И.[2], Каримова Ф.Г.[2], Шакирова Ф.М.[1]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа, Республика Башкортостан, Россия*
yuldashevra@gmail.com

[2] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук, Казань, Республика Татарстан, Россия*
karimova@kibb.knc.ru

Исследовали влияние предобработки цитокинином 6-бензиламинопурином в концентрации 44 нМ на тирозиновое фосфорилирование белков проростков пшеницы *Triticum aestivum* L. в условиях обезвоживания моделируемого засолением с последующей идентификацией наиболее чувствительных к обработке полипептидов с помощью матричной лазерной десорбционно-ионизационной масс-спектрометрии (MALDI-TOF MS).

Выявлено, что инкубирование непредобработанных растений на 2% NaCl в течение 24 ч вызывало торможение роста проростков сопровождающееся заметным дефосфорилированием белков, участвующих в фотосинтезе и регуляции роста и развития растений, таких как малая и большая субъединицы рибулозобисфосфат карбоксилазы, хлоропластная фруктозо-бисфосфат альдолаза, β-субъединица хлоропластного РБФК-связывающего белка, предшественник полипептида, входящего в состав кислород-высвобождающего комплекса фотосистемы II, глутамин синтетаза, актин и α- и β-субъединицы тубулина. Важно отметить, что в условиях стресса наблюдалось усиление фосфорилирования липоксигеназы 2, являющейся частью защитного механизма растений при различных формах стресса.

Предобработка растений 6-бензиламинопурином способствовала снижению уровня негативного действия засоления на рост и препятствовала вызываемому засолением дефосфорилированию отмеченных белков, а также вызывала еще большее фосфорилирование липоксигеназы 2.

Таким образом, полученные результаты демонстрируют проявление защитного эффекта 6-бензиламинопурина на фосфопротеом пшеницы в условиях засоления.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 14-04-00731_а).

ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ К СТРЕССАМ ЭКСТРАПОЛЯЦИЕЙ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИХ ИЗОЛИРОВАННЫХ СТРУКТУР

Evaluation of plants resistance to stress by extrapolation of indicators of their isolated structures

Юсуфов А.Г.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение Дагестанский государственный университет, Махачкала, Республика Дагестан, Россия; frite69@mail.ru

Анализ взаимоотношения целого (I) и части (II) – задача разных разделов биологии. Для растений он имеет особый характер ввиду пространственно-временной разветвленности и мозаичности организации I.

В связи с этим остается еще необходимость разработки подходов оценки взаимоотношений I и II с учетом форм, проходящих в своем становлении смены разного состояния I. В перспективе при этом представляет интерес изучение реакции изолированных II воздействием определенных стрессов с последующей оценкой возможностей ее экстраполяции на состояние I.

В нашем коллективе в течение ряда лет у диких и культурных древесных, поли- и монокарпических трав семена, проростки, изолированные II (черенки и экспланты) культивировали в нестерильных условиях и *in vitro* при внесении в среду солей, тяжелых металлов и отходов нефти. Разные изолированные II обнаруживают специфику реакции на воздействия. Только реакция семян, проростков и стеблевых черенков с листьями оказалась наиболее близкой к таковой I. Вверх по оси стебля II обнаруживают большую чувствительность к стрессам. Однако реакция любой II позволяет приближенно оценить уровень чувствительности объектов к ним, особенно в случае комплексного сравнения состояния ряда из них.

Агроэкологические исследования имеют значение и для решения задач аутоэкологии. Суть их состоит в анализе продуктивности индивидуумов по комплексу признаков жизнедеятельности при действии факторов на количественные показатели толерантности к стрессам. Уравновешенность популяций и видов в среде их обитания принято определять величинами их продуктивности и размножения, что зависит от устойчивости структур I как экологической интегральной единицы. Отсюда для экологической устойчивости популяции и видов также важна оценка пороговой реакции разных II целого организма. Такие исследования перспективны при использовании популяционных методов анализа их результатов с выявлением общих тенденций, вытекающих из множества случайно взаимодействующих факторов. Предлагаемый подход не является альтернативой полевой оценки растений и сортов к стрессам. Он лишь позволяет приближенно судить о возможной специфике устойчивости растений на воздействия разными стрессами.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ГОРМОНАЛЬНОГО СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ НА МИКРОРАЗНОЖЕНИЕ *ORIGANUM VULGARE* L. *IN VITRO*

Influence of nutrient medium hormonal composition on *in vitro* micropropagation of *Origanum vulgare* L.

Якимова О.В., Егорова Н.А.

Государственное Бюджетное Учреждение Республики Крым, «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма», Симферополь, Россия; olyyakimova@yandex.ru

Душица обыкновенная *(Origanum vulgare* L.*)* – многолетнее травянистое растение, широко применяемое в парфюмерной, косметической, пищевой и лакокрасочной промышленности, а также в медицине. Особую ценность имеет эфирное масло душицы, в состав которого входят тимол и карвакрол. Согласно литературным источникам, эфирные масла с высоким содержанием карвакрола превосходят по своим свойствам многие существующие антибиотики и антигистаминные препараты. В связи с этим ведется селекционная работа по выведению высокомасличных сортов душицы с повышенным содержанием карвакрола в сырье. С целью повышения эффективности селекционного процесса все чаще внедряются современные биотехнологические приемы. Одним из таких перспективных приемов является клональное микроразмножение. В настоящее время эта технология поставлена на промышленную основу и на лабораторном уровне отработана для нескольких сотен видов растений. По сравнению с традиционно используемыми методами семенного и вегетативного размножения клональное микроразмножение имеет ряд преимуществ – более высокий коэффициент размножения, миниатюризация процесса, получение оздоровленного посадочного материала и др. В связи с этим целью нашего исследования было изучение развития эксплантов стебля и разработка основных этапов клонального микроразмножения душицы *in vitro* для ускоренного размножения ценных генотипов и новых сортов.

Объектом исследований служили растения *Origanum vulgare* L. (образец №10), выращиваемые в условиях закрытого грунта. В качестве инициальных эксплантов для микроразмножения использовали сегменты стебля с одним узлом. Для стерилизации растительного материала применяли 70% этанол и 50% «Брадофен». Экспланты культивировали на агаризованной питательной среде в пробирках или колбах на 100 мл в культуральной комнате при температуре 24–26°С, относительной влажности воздуха 70%, освещении 2–3 клк и продолжительности фотопериода 16 ч.

В результате проведенных экспериментов было изучено влияние состава питательной среды на развитие эксплантов на первом этапе микроразмножения душицы. Были испытаны 11 вариантов питательной среды Мурасиге и Скуга (МС), дополненной БАП, кинетином, гиббереллловой кислотой (ГК) и ИУК. Показано, что уже на 7–10-е сутки культивирования начинался рост пазушных и адвентивных побегов. На 30-е сутки культивирования у эксплантов частота множественного побегообразования варьировала в зависимости от состава питательной среды от 25,0 до 79,4%, а количество побегов на эксплант составило 1,3–7,8 шт. На средах, содержащих ГК, была отмечена высокая частота витрификации побегов. Оптимальные результаты при введении эксплантов были получены при использовании в составе питательной среды БАП в концентрациях от 1,0 до 2,0 мг/л, при этом коэффициент размножения достигал 1:12,2 – 1:12,6.

На втором этапе микроразмножения душицы было испытано двадцать вариантов модифицированной среды МС. В качестве культурального сосуда использовали колбы на 100 мл. Развитие основного и дополнительных побегов было отмечено на 5–7-й день культивирования. На средах, содержащих от 0,5 до 2,0 мг/л БАП, был отмечен достаточно высокий коэффициент размножения за цикл культивирования (1:36,7 –1:94,9). Лучшие результаты были получены при использовании 0,5 мг/л БАП, коэффициент размножения при этом составлял 1:94,9. При увеличении концентрации БАП до 2,0 мг/л существенно повышалась частота витрификации побегов, в некоторых случаях она достигала 100%.

Укоренение растений *in vitro* – один из немаловажных этапов клонального микроразмножения. Часто на средах, оптимальных для 1–2 этапов микроразмножения, не происходит процесс образования корней. Так как у душицы при микроразмножении была отмечена низкая частота корнеобразования, то дальнейшей задачей стала оптимизация гормонального состава питательной среды для укоренения полученных *in vitro* проростков. Установлено, что на испытанных семи вариантах питательных сред (с добавлением ИМК, НУК и ИУК) наблюдалась достаточно высокая частота ризогенеза. Однако максимальный процент укоренения (100%) достигнут на среде, содержащей 1,0 мг/л ИМК, при этом было отмечено хорошее развитие, как основного, так и боковых корней. Полученные результаты являются основой для разработки технологии клонального микроразмножения *Origanum vulgare* L. *in vitro*.

ВЛИЯНИЕ КАЧЕСТВА СВЕТА И РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА НА РИЗОГЕНЕЗ НЕКОТОРЫХ ДЕКОРАТИВНЫХ РАСТЕНИЙ ПРИ РАЗМНОЖЕНИИ ЧЕРЕНКОВАНИЕМ

Effects of light quality and plant growth regulators on root formation in ornamental plants cuttings

Яковлева О.С., Бугакова И.С., Тараканов И.Г

ФГБОУ ВО Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия; plantphys@timacad.ru

Известно, что красный свет и регуляторы роста ауксиновой природы ускоряют ризогенез у многих растений. Эти особенности реакции растений используют при вегетативном размножении путем зеленого черенкования. Остается открытым вопрос о качестве красного света и его универсальности для разных культур. А также, о влиянии стимуляторов роста нового поколения созданных с использованием натуральных компонентов на основе продуктов метаболизма микоризных грибов (препарат Мицефит).

В качестве объектов исследований использовали три вида растений: Фикус Бенджамина (*Ficus benjamina* L.), Гибискус китайский (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) и Пассифлору голубую (*Passiflora coerulea* L.). Данные культуры широко используются в озеленении интерьеров. Первые две культуры древесные. Их используют в качестве крупномеров. Третья культура – травянистая лиана. Вопрос о вегетативном размножении этих культур стоит не только на теоретическом, но и практическом уровне.

В экспериментах было три варианта световых режимов. В качестве контроля использовали растения, содержащиеся при естественном освещении в оранжерее и досвечиваемые натриевыми лампами высокого давления. Опытные варианты были помещены на искусственный свет создаваемый красными светоиспускающими диодами (СИД) двух длин волн СИД635 и СИД 660. Было несколько вариантов предпосадочной обработки черенков. В качестве контроля использовали черенки, которые замачивали в воде в течение двух часов. Опытные варианты обрабатывали индолилмасляной кислотой (ИМК) в концентрации 50 мг/л, мицефитом в концентрациях 10 и 100 мг/л, а также смесью мицефита 100 мг/л и ИМК. Черенки укореняли в кассетах во влажной среде. В качестве субстрата использовали торфяной грунт «Агробалт» с полным набором питательных элементов.

В результате проведенных экспериментов было установлено, что качество света влияло на образование и рост корней у всех исследуемых культур. Лучшим источником освещения при черенковании Фикуса Бенджамина и Гибискуса китайского оказался коротковолновый красный свет. Так, для растений фикуса все варианты обработки при укоренении с использованием СИД 635 давали положительный результат. Самым жизнеспособным вариантом оказался вариант по совместному использовании красного света и индолилмасляной кислоты. Данный вариант превосходил аналогичный укореняемый на естественном свету по количеству образовавшихся корней в 1,5 раза, а по массе на 20%. Мицефит проявлял положительное действие при использовании СИД 660. Аналогичные результаты были получены и для гибискуса китайского. Мицефит. оказывал положительное действие на дальнейшее развитие как подземной, так и надземной части растений. Совместное применение мицефита и ИМК увеличивало количество корней по сравнению с обработкой черенков водой в 3,5 раза.

ФОТОМОРФОГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ РОСТА И РАЗВИТИЯ ЗЕМЛЯНИКИ САДОВОЙ *(FRAGARIA* X *ANANASSA* L.) В УСЛОВИЯХ СВЕТОКУЛЬТУРЫ

Photomorphogenetic control of growth and development in strawberry (*Fragaria* x *ananassa* L.*)* plants grown under artificial lighting

Яковцева М.Н., Буланова И.А., Говорова Г.Ф., Тараканов И.Г.

ФГБОУ ВО Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия; mariantes@yandex.ru

Процессы жизнедеятельности растений находятся в тесной зависимости от интенсивности света и его спектрального состава. В многочисленных исследованиях установлено, что определенные части спектра ФАР наряду с трофическим оказывают важное регуляторное действие на рост, развитие и продукционный процесс в целом. Это особенно важно учитывать при выращивании растений в светокультуре с использованием искусственных источников облучения. Современный этап развития светокультуры растений в связи с внедрением облучателей нового поколения на основе светоиспускающих диодов (СИД) существенного расширяет возможности тонкой регуляции физиологических процессов. На повестке дня стоит вопрос о разработке как видовых, так и сортовых технологий светокультуры растений, оптимизации световых режимов.

Земляника садовая является одним из наиболее рентабельных растений для выращивания с использованием искусственных источников облучения. Мы проводили исследования по физиологическому обоснованию отдельных элементов ее выращивания в светокультуре с использованием светодиодных облучателей. Растения выращивали в условиях вегетационного опыта в почвенной культуре в оранжерее с естественным светом в течение круглого года. В качестве облучателей при досвечивании растений применяли узкополосные красные (К) и синие (С) СИД с соотношением К:С=2:1 или 8:1 и натриевые лампы высокого давления (НЛВД) в качестве стандарта. Плотность потокафотонов 250 мкмоль/(м²·с), фотопериод 18 ч. В работе изучали реакцию на выращивание в условиях разных световых режимов серии сортов как отечественной (РГАУ-МСХА), так и зарубежной селекции, включая ремонтантные сорта.

В исследованиях было установлено влияние качества света на сортовые физиологические реакции растений, онтогенез, количественные и качественные показатели урожайности. В отношении прохождения фенологических фаз земляники садовой отмечена сортоспецифическая реакция растений на использование при досвечивании света разного спектрального качества. Наиболее ранняя дифференциация репродуктивных органов была отмечена у растений сорта Говоровская, выращенных в условиях досвечивания СИД сК:С= 2:1.Среди ремонтантных сортов высокой раннеспелостью отличался сорт Фламенко. Позже всего к плодоношению переходил растения сорт Сельва; особенно сильно начало плодоношения задерживалось в варианте опыта с досвечиванием растений облучателями с соотношением К:С =8:1. Сорт Елизавета 2 в варианте опыта с использованием НЛВД не проявлял характерной для него ремонтантности. В то же время, у всех изученных короткодневных сортов в условиях досвечивания узкополосными СИД наблюдали склонность к ремонтантности: были отмечены две четко выраженные волны плодоношения. В условиях досвечивания НЛВД у всех сортов было отмечено активное образование усов. Данный режим освещения можно рекомендовать для вегетативного размножения растений и получения рассады.

Наилучшие биометрические показатели у всех короткодневных сортов были в варианте с использованием СИД, особенно при досвечивании СИД с соотношением К:С = 8:1. У ремонтантных сортов, напротив, лучшие показатели накопления сырой и сухой биомассы, нарастания площади листьев, длины черешка были отмечены в варианте с НЛВД. Так, площадь листьев у растений в этом варианте примерно вдвое превышала опытные варианты с досвечиванием СИД. Существенных различий в длине и массе корневой системы выявлено не было. Анализ развития фотосинтетического аппарата земляники садовой показал, что суммарное содержание пигментов (хлорофиллов *a* и *b*, каротиноидов) заметно варьируется в зависимости от сортовых особенностей культуры. Наибольшее весовое содержание хлорофиллов наблюдали у короткодневных сортов Вечная весна, Ранняя плотная и Снежана в варианте СИД К:С = 2:1, наименьшее - в условиях досвечивания НЛВД. У ремонтантных сортов Фламенко и Сельва наибольшее суммарное содержание пигментов в листьях было в варианте СИД К:С = 8:1.

Анализ суммарной урожайности показал, что у короткодневных сортов Ранняя плотная, Снежана и Говоровская, а также ремонтантного сорта Фламенко урожайность была существенно выше в условиях досвечивания СИД сК:С = 8:1. В данном варианте ягоды характеризовались правильной формой, насыщенной окраской и приятным запахом. Количественные показатели сорта Сельва, наоборот, были выше в условиях выращивания с использованием НЛВД. Отмечено влияние светодиодных источников освещения на биохимические показатели плодов земляники. В частности у растений, выращенных с досвечиванием СИД К:С = 2:1 содержалось на 10-20% больше сахаров, чем в других вариантах эксперимента. Также, под влиянием узполосного К и С света меняется соотношение моно- и полисахаридов в плодах. Так, в варианте сСИД, это соотношение было почти 1:1, в то время как под НЛВД оно составляло порядка 2,5:1.

АДАПТАЦИОННЫЕ МЕХАНИЗМЫ H^+-АТФАЗНОЙ АКТИВНОСТИ У МУТАНТНЫХ ФОРМ АРАБИДОПСИСА

Adaptive mechanisms of H^+-ATPase activity in the mutant forms of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.

Якубова М.М., Хамрабаева З.М.

Таджикский национальный университет, Душанбе, Таджикистан; awst2001@mail.ru

Как известно, адаптация представляет собой способность живых организмов приспосабливаться к изменяющимся условиям окружающей среды с одновременным повышением вероятности выживания и самовоспроизведения. Особую актуальность в связи с изучением адаптации и устойчивости растений к неблагоприятным условиям среды имеет исследование процесса фотосинтеза как одного из уникальнейших явлений эволюции. Для этих целей большой интерес представляет изучение мутантных форм растений.

Объектом исследования служило растение арабидопсис *(Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.*)* исходной расы En и два хлорофилльных мутантакак с нарушениями в накоплении пигментов, так и изменениями в структурной организации пластид. Для более полной характеристики энергетического обмена в хлоропластах необходимым являлось изучение мембранной АТФазы, а также влияния стимуляторов на активность данного фермента.

Исследованные нами объекты (исходные и мутантные формы арабидопсиса) характеризуются рядом физиолого-биохимических особенностей, которые проявляются как на уровне структурной организации, так и в функциональной активности фотосинтетического аппарата (ФА). В частности, показано, что эффективность работы ФА зависит от ультраструктурной организации хлоропласта (в одном случае – увеличение числа тилакоидов в гранах, в другом – количества самих гран), а также обусловлена высокой работоспособностью каждой электрон-транспортной цепи или увеличением размера антенн (Якубова, Юлдашев, 1999; Якубова, 2004). Представленные результаты на указанных объектах свидетельствуют о наличии различий также на уровне энергетической эффективности, в частности, активности H^+-АТФазы хлоропластов.

Превращение латентной АТФазы в активную происходит при освещении хлоропластов или при обработке изолированного фермента нагреванием, спиртами, протеазами, восстанавливающими агентами. Полученный нами экспериментальный материал показывает, что в присутствии модификаторов Mg – АТФаза мутантов арабидопсиса проявляла большую способность к активации.

Большое значение для функционирования сопрягающих белков имеет их связь с мембраной. Мембранная организация фотосинтетического аппарата изученных мутантов имеет существенные различия по сравнению с исходными формами. В связи с этим важно было изучить АТФазную активность хлоропластов в присутствии этанола как вещества, оказывающего модифицирующее действие на липидную фазу мембран. Изучение влияния этанола в широком диапазоне концентраций показало, что в хлоропластах арабидопсиса наблюдалась прямая зависимость между увеличением концентрации спирта в среде и АТФазной активностью. При этом у мутантов повышение АТФазной активности в присутствии этанола выражено в большей степени, чем у исходной расы Энкхайм. Например, для хлоропластов мутанта 58/15 эффективность стимуляции составила восемь раз, у мутанта Триплекс и расы Энкхайм – шесть и четыре раза, соответственно.

Представлялось важным на исследованных объектах изучить также каталитическую активность очищенного CF_1 хлоропластов. В частности, использование этанола в качестве модификатора не позволило обнаружить значительной разницы в АТФазной активности фермента у изученных форм арабидопсиса. Эти результаты указывают на то, что использование этанола как модификатора активности очищенного фермента имеет тот же характер действия, как показано на других объектах.

На арабидопсисе изучено влияние условий выращивания растений при различной температуре (при низких положительных температурах (5-7°С) и в стандартных условиях (20-22°С)) на АТФазную активность хлоропластов. Выявлено, что при низких положительных температурах выращивания фермент проявлял невысокую активность. Растения, выращенные в стандартных условиях, обладали примерно в сорок раз большей АТФазной активностью. У растений, выращенных при 5-7°С, внесение в реакционную среду веществ-стимуляторов вызывало значительное повышение АТФазной активности. В то же время эти соединения не вызывали существенных изменений активности фермента в хлоропластах растений, выращенных при 20-22°С. Следовательно, влияние модификаторов на Mg – АТФазную активность хлоропластов арабидопсиса зависит от физиологического состояния растений. Низкие положительные температуры выращивания, по-видимому, нарушают нативное состояние мембранных структур хлоропластов и вызывают снижение активности АТФазы (Рубин, Гавриленко, 1977). Установлено, что в повышении уровня фотосинтетического энергообмена у мутантов исследованных растений, различающихся по функциональной активности ФА, ведущая роль принадлежит белкам сопрягающего комплекса. Мутация не затронула качественный состав тилакоидных мембран, а повлияла на соотношение ее компонентов, чем и могут объясняться наблюдаемые различия в функциональной активности АТФазного комплекса хлоропластов.

ДОНОРОНО-АКЦЕПТОРНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ У ПРОДУКТИВНЫХ ФОРМ ХЛОПЧАТНИКА

Source-sink relationships in highly productive cotton plant varieties

Якубова М.М., Юлдошев Х.Ю., Хомидов Х.Н.

Таджикский национальный университет, Душанбе, Таджикистан; himohiddin@maiLru

Особенности распределения ассимилятов между отдельными органами в определенных условиях могут иметь решающее значение в продуктивности растений. Однако закономерности, определяющие распределение ассимилятов в растении при нормальных и измененных донорно - акцепторных отношениях до конца не выяснены, а литературные данные по этому вопросу весьма противоречивы. Вместе с тем, одной из главных причин опадения плодоорганов у хлопчатника - это органпченпе в них притока фотоассимилятов. В связи с этим, большой интерес представляет необходимость выявления характера регуляторных связей между органами, ассимилирующими и потребляющими ассимиляты в системе целого растения у данной культуры.

Были изучены средневолокнистые сорта хлопчатника *Gossypium hirsutum* L. Хисор, Мехргон, линии Л-15 и Л-53. Исследованные сорта отличались по росту, продолжительности вегетационного периода, вилтоустойчивости, скороспелости, а также другим морфофизиологическим признакам.

На основании исследований особенности распределения ассимилятов в растении хлопчатника в репродуктивный период, а также в условиях измененных донорно - аксепторных отношений (удаление коробочек и точек роста) отмечено временное снижения фотосинтетической активности листьев. Вместе с тем, снижение интенсивности фотосинтеза привело у усиление потока CO_2 из листа в атмосферу в результата дыхания. Установлено, что уровень восстановления ассимиляционной способности и переориентацией потока ассимилятов из листа в другие аттрагирующие центры у сортов и линии хлопчатника отличаются. Показано, что интенсивность и направленность параметров системы фотосинтетической ассимиляции CO_2 листьев может сильно изменяться в зависимости от состояния растения и условий, в которых они находятся. На воздействие повышенной концентрации CO_2 в силу разного генотипической особенности фотосинтетического аппарата сорта и линий хлопчатника отвечают изменением фотосинтетического усвоения углерода. В результате медленного использования редуцирующих сахаров на синтез сахарозы и крахмала, вероятно, происходит ухудшение условия экспорта ассимилятов и в конечном итоге, нарушение донорно-акцепторного взаимодействия между листом и аттрагирующими центрами.

Следовательно, указание особенности обуславливают резкое возрастание чистой продуктивности фотосинтеза, улучшение условий экспорта ассимилятов, усиление притока фотоассимилятов, сохранение и образование полноценных плодоорганов и, в конечном итоге, - формирование высокого урожая.

Таким образом, полученные нами данные могут быть использованы для оптимизации донорно - акцепторных отношений и увеличения продуктивности хлопчатника.

РЕГУЛЯТОРНАЯ РОЛЬ СЕЛЕКТИВНОГО СВЕТА В ЭНЕРГЕТИЧЕСКОМ ОБМЕНЕ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И ЗАСОЛЕНИЯ

Regulatory role of selective light on energy metabolism in wheat seedlings affected by heavy metals and salification

Якушенкова Т.П., Кузнецова А.П.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Казанский (Приволжский) Федеральный университет, Казань, Республика Татарстан, Россия; tyakushe@kpfu.ru

Растения способны различать почти все характеристики света, включая направление, длину волны и продолжительность освещения, используя при этом три основных класса фоторецепторов, «узнающих» разные длины волн: поглощающие красный/дальний и красный свет - фитохромы, поглощающие синий свет/УФ-А -криптохромы и фототропины.

Согласно современным представлениям регуляторная роль разнокачественного света проявляется не только в контроле роста и развития растений, но и в метаболизме и функциях.

Несмотря на определенный прогресс в развитии представлений о влиянии света на зеленые растения, данных о регуляторном влиянии селективного света на энергетический баланс, регуляцию соотношения дыхания и теплопродукции в различных органах и тканях растений в норме и при стрессе, в литературе имеется недостаточно, и они носят эпизодический характер.В связи с этим целью настоящей работы явилось изучение роли селективного света в энергетическом обмене проростков пшеницы в условиях засоления и действия тяжелых металлов.

Растения выращивались в растильне, разделенной на три светоизолированных блока: 1 - белый свет (источник освещения – люминесцентные лампы ЛДС-40), 2 – синий свет (источник освещения люминесцентные лампы ЛГ-40, пик пропускания 420-460 нм), 3 – красный цвет (источник освещения – люминесцентные лампы ЛК-40, пик пропускания 620-640 нм) при 12 ч фотопериоде. Проростки выращивались на водопроводной воде в кюветах (контроль) и с добавлением на третьи сутки в среду выращивания NaCl в концентрации 150 мМ, $CdSO_4$ с концентрацией 1 мМ и $CuSO_4$ с концентрацией 1 мМ. Для изучения совместного действия соли и тяжелых металлов на третьи сутки в среду выращивания добавляли NaCl концентрацией 150 мМ, а на шестые сутки заменяли соль на $CdSO_4$ (150 мМ) либо на $CuSO_4$ (150 мМ). Обьектом исследования явился сорт озимой мягкой пшеницы Казанская 560 созданный в ГУ Татарский НИИСХ.

Известно, что у высших растений под действием ТМ нарушаютсясистемы фотосинтеза, дыхания, синтеза пигментов и белков. Степень угнетения этих процессов зависит от природы элемента и еготоксичности. При исследовании действия ТМ на интенсивность дыхания было установлено, что обработка $CuSO_4$ не влияла на интенсивность дыхания, а обработка $CdSO_4$ приводила к снижению интенсивности дыхания листьев на 30% у контрольных растений (БС). Селективный свет вызывал подавление интенсивности дыхания под воздействием меди и стимуляцию под действием кадмия. Наибольшие отклонения в этом показателе наблюдали у проростков, выращенных на КС. Предобработка проростков NaCl (150 мМ) способствовала повышению интенсивности дыхания у проростков с белого и красного участка спектра. Фотосинтез оказался более чувствительным к засолению и действию тяжелых металлов, чем дыхание. Так под действием токсичныхконцентраций ТМи засоления наблюдали снижение интенсивности фотосинтеза. Следует отметить, что у проростков пшеницы, выращиваемых на синем участке спектра, наблюдалось меньшее подавление интенсивности фотосинтеза, причем ионы меди оказались более токсичными, чем ионы кадмия. Скорость теплопродукции является показателем эффективности использования энергии. При действии неблагоприятных факторов среды, на начальных этапах адаптации, происходит мобилизация энергетических ресурсов. Растения расплачиваются затратой энергетических ресурсов, поэтому определение теплопродукции проростков пшеницы при выращивании их на свету различного спектрального состава, как в оптимальных, так и стрессовых условиях важно для понимания механизмов адаптации к тем или иным неблагоприятным воздействиям. При засолении значения тепловыделения упроростков пшеницы с БС и КС повышаются более значительно, чем интенсивность дыхания. При культивировании растений в растворе сульфата меди или сульфата кадмия в условиях разнокачественного света была зафиксирована вспышка теплопродукции и уменьшение интенсивности дыхания независимо от качества света.

СПЕЦИФИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ИОНОВ МАРГАНЦА(II) И КАЛЬЦИЯ НА ФОТОПОГЛОЩЕНИЕ КИСЛОРОДА НА ДОНОРНОЙ СТОРОНЕ ФОТОСИСТЕМЫ 2 С УДАЛЕННЫМ ВОДООКИСЛЯЮЩИМ КОМПЛЕКСОМ

Specific effect of manganese and calcium ions on oxygen photoconsumption on donor side of Mn-depleted photosystem 2

Яныкин Д.В., Хоробрых А.А., Хоробрых С.А., Климов В.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, Московская область, Россия; ya-d-ozh@rambler.ru

Показано, что удаление марганца из водоокисляющего комплекса (ВОК) фотосистемы 2 (ФС2) (препараты апо-ВОК-ФС2) приводит к фотопоглощению O_2, большая часть которого (около 70%) связана с донорной стороной ФС2 и может быть вызвано взаимодействием O_2 с радикалами, образующимися при фотоокислении органических молекул катион-радикалом $P680^{+\cdot}$ или $TyrZ^{\cdot}$. Это предположение нашло подтверждение в экспериментах с использованием новой флуоресцентной метки Spy-HP, специфичной для гидропероксидов. Обнаружено, что при освещении в течение 3 мин препаратов апо-ВОК-ФС2 образуются гидропероксиды гидрофильной и гидрофобной природы, в количестве ~4 и ~200 молекул на один РЦ ФС2, соответственно. При импульсном освещении показано, что фотопоглощение O_2 характеризуется высоким квантовым выходом и активируется при добавлении каталитических концентраций Mn^{2+}. Исследование эффекта ионов двухвалентных металлов на поглощение O_2 в препаратах ФС2, лишенной марганца (апо-ВОК-ФС2) показало, что ионы непереходных металлов (Ca^{2+}, Mg^{2+}) не влияют на фотопоглощение O_2, в то время как эффект ионов переходных металлов (Co^{2+}, Fe^{2+}, V^{2+}) зависит от их окислительно-восстановительного потенциала – отсутствие эффекта при добавлении ионов с высоким редокс потенциалом (Co^{2+}) и ингибирование фотопоглощения O_2, ионами металлов (Fe^{2+} и V^{2+}), способными донировать электрон на апо-ВОК-ФС2. Таким образом, только ионы Mn^{2+} были способны к активации поглощения O_2 при импульсном освещении апо-ВОК-ФС2. При исследовании действия ионов Ca^{2+} на Mn^{2+}-индуцируемую активацию фотопоглощения O_2 в апо-ВОК-ФС2 выявлено, что Ca^{2+} активирует поглощение O_2 при импульсном освещении апо-ВОК-ФС2 в присутствии Mn^{2+}. На основании полученных данных сделано предположение о том, что фотопоглощение O_2 в апо-ВОК-ФС2 может отражать не только процессы, приводящие к фотоингибированию ФС2, но и вероятное участие O_2 в фотоформировании неорганического ядра ВОК ФС2.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Московской области в рамках научного проекта «14-44-03680 р_центр_а» и грантом Президента Российской Федерации МК-3890.2015.4.

РЕДОКС-ОПОСРЕДОВАННОЕ ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ЗАЩИТНЫХ БЕЛКОВ В РАСТЕНИЯХ ПРИ ГРИБНОМ ПАТОГЕНЕЗЕ

Redox-mediated changes in gene expression of protective proteins in plants at the fungal pathogenesis

Яруллина Л.Г.[1,2]., Касимова Р.И.[1], Ибрагимов Р.И.[2], Ахатова А.Р.[1], Умаров И.А.[2], Максимов И.В.[1]

[1] *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа, Россия; yarullina@bk.ru*

[2] *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Башкирский государственный университет, Уфа, Россия; ibragimov56@yandex.ru*

Устойчивость растений к поражению патогенами, обеспечивается реализацией комплекса физиолого-биохимических процессов, протекающих на клеточном, тканевом и организменном уровнях. При контакте с патогенами в растениях образуются сигнальные молекулы, индуцирующие или стимулирующие ответные защитные реакции. Активные формы кислорода (АФК), в том числе перекись водорода (H_2O_2), принимают непосредственное участие в формировании и реализации ответных защитных реакций растения при инфицировании патогенами. Предполагается, что под воздействием H_2O_2 происходит активация экспрессии генов патоген-индуцируемых защитных белков при реализации локального и системного иммунитета. В связи с этим, важное значение в защите растений от патогенов приобретает поиск путей и способов регуляции уровня АФК в инфицированных тканях.

Было исследовано влияние медиаторов сигнальных систем салициловой (СК) и жасмоновой (ЖК) кислот, фитопрастоноидных оксилипинов (ОЛ), а также внеклеточных метаболитов (липопептидов) *Bacillus subtilis* на генерацию H_2O_2, экспрессию генов защитных белков в листьях пшеницы *Triticum aestivum* и клубнях картофеля *Solanum tuberosum* при инфицировании патогенами *Septoria nodorum* и *Phytophthora infestans* соответственно. Для замачивания семян пшеницы и обработки клубней картофеля испытуемые соединения использовали в следующих концентрациях: СК (10^{-5} М), ЖК (10^{-7} М), ОЛ (20 мкг/мл), метаболиты *B. subtilis* (2 мкг/мл). Инфицирование срезанных 7-суточных листьев пшеницы грибом *S. nodorum* и дисков из клубней картофеля оомицетом *Ph. infestans* производили из расчета 10^6 спор/мл и 10^4 спор/мл соотвественно. Бактериальные липопептиды были получены путем осаждения 12 %-ной соляной кислотой из культуральной жидкости *B. subtilis* 26Д. Для идентификации оксилипиновых компонентов в липидных экстрактах из семян льна использовали ИК-спектроскопию. Оценку продукции H_2O_2, выделение и анализ белков проводили через 48 ч после инфицирования.

Предпосевная обработка семян пшеницы СК и ЖК снижала степень развития гриба *S. nodorum* на листьях пшеницы и оказывала стимулирующее действие на продукцию H_2O_2 в зоне инфицирования. Методом полимеразной цепной реакции выявлено усиление в инфицированных тканях экспрессии генов оксалатоксидазы AJ556991.1 и анионной пероксидазы TC 151917. Двумерный электрофорез (2DE) растворимых белков инфицированных листьев выявил как сходство, так и различия изменений протеомов под воздействием СК и ЖК. Полученные данные указывают на то, что формирование защитного ответа в растениях пшеницы к *S. nodorum* под воздействием СК и ЖК обусловлено генерацией H_2O_2 и модуляцией экспрессии белков.

Обработка ЖК, ОЛ и метаболитами *B. subtilis* приводила к повышению продукции H_2O_2 в инфицированных клубнях картофеля в среднем на 35%. Повышение уровня H_2O_2 под воздействием обработки исследуемыми соединениями могло быть связано с активацией в клубнях оксидоредуктаз (пероксидазы и каталазы). Фракционирование белков из клубней картофеля методом 2DE показало, что заражение *Ph. infestans* и обработка исследуемыми сигнальными молекулами вызывает изменения в протеоме *S. tuberosum*. Благодаря использованию модификации 2DE, включающей в себя фракционирование белков в первом направлении, неравновесным электрофорезом в градиенте pH среди идентифицированных цитоплазматических белков, выявлено несколько белковых фракций с изоэлектрическими точками (pI) в диапазоне 6-7 и 7,5-8,7. Изоэлектрофокусирование на стрипах и электрофорез в денатурирующей системе в щелочных условиях позволили идентифицировать в суммарном спектре растворимых белков 39 полипептидов, которые имели качественные и количественные различия. Различия были связаны с дифференциальной экспрессией белков, а также появлением в инфицированных тканях изоформ в нейтральной и щелочных областях. В диапазоне pH 5,8-6,5 обнаружено 5 жасмонат-индуцируемых белков с различной с молекулярной массой (Mr). Под воздействием фитопростаноидных оксилипинов усиливалась экспрессия 12 белков и синтезировались 2 белка *de novo* с Mr/pI 53/6,45 и Mr/pI 51/6,7. Внеклеточные метаболиты *B. subtilis* изменяли спектр защитных белков клубней картофеля, стимулируя в 4 раза повышение содержания белка с Mr/pI 27/6,0 и индуцировали синтез *de novo* 3 белков: Mr/pI 64/5,2; Mr/pI 29/4,7; Mr/pI 32/7,9. Возможность регулирования активности и спектра защитных белковых молекул открывает принципиально новые подходы к созданию новых экологически безопасных защитных препаратов комплексного действия.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта МОН РФ № 14.604.21.0016 по приоритетному направлению «Науки о жизни» в рамках мероприятия 1.2 Программы (уникальный идентификатор RFMEFI60414X0016) на оборудовании ЦКП «Биомика» (Отделение биохимических исследований и нанобиотехнологии РЦ КП «Агидель») и УНУ «КОДИНК».

ВЛИЯНИЕ СОЛЕВОГО СТРЕССА НА АНТИОКСИДАНТНУЮ СИСТЕМУ РАСТЕНИЙ АРАБИДОПСИСА, ДЕФЕКТНЫХ ПО ЖАСМОНАТНОМУ СИГНАЛИНГУ

Effect of salt stress on antioxidant system of *arabidopsis* plants defective in jasmonic signaling

Ястреб Т.О.[1], Колупаев Ю.Е.[1], Луговая А.А.[1], Дмитриев А.П.[2]

[1] *Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева, Харьков, Украина*
plant_biology@mail.ru

[2] *Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины, Киев, Украина*
dmyt@voliacable.com

Жасмоновая кислота (ЖАК) относится к «стрессовым» фитогормонам, задействованным в реакциях растений на неблагоприятные биотические и абиотические факторы. При этом компоненты трансдукции сигналов ЖАК, участвующие в формировании адаптивных реакций растений на стрессоры (особенно абиотические), исследованы далеко не полностью. В реализации эффектов ЖАК большое значение имеют транскрипт-факторы JIN1/MYC2. Показано их участие в формировании защитных реакций против фитофагов, метаболизме флавоноидов и защите от окислительного стресса (Kazan, Manners, 2008). Отдельные факты указывают на возможную роль JIN1/MYC2 в адаптации растений к засолению. Так, при действии хлорида натрия у растений винограда отмечалось усиление экспрессии гена *JIN1/MYC2*, которое было относительно кратковременным (Ismail et al., 2012). Предполагается, что этот ген прямо не вовлечен в передачу стрессового сигнала, но опосредованно может участвовать в процессах адаптации растений к засолению. Также показана роль транскрипт-фактора JIN1/MYC2 в устойчивости растений арабидопсиса к окислительному стрессу. В частности, в ответ на обработку метилжасмонатом повышалась резистентность растений дикого типа к окислительному стрессу, вызываемому метилвиологеном, тогда как у мутантов *jin1* (jasmonate insensitive1) такого эффекта не наблюдали (Dombrecht et al., 2007). Однако в целом роль фактора транскрипции JIN1/MYC2 в жасмонат-зависимом индуцировании защитных реакций растений в ответ на абиотические стрессы изучена недостаточно. В связи с этим изучали его возможное участие в регуляции активности ферментативной антиоксидантной системы у растений арабидопсиса *Arabidopsis thaliana* при действии засоления.

Исследования проводили на растениях дикого типа (*Col-0*) и мутантных линиях *jin1*, дефектных по гену *JIN1*, кодирующему белок транскрипт-фактор MYC2/JIN1. Растения в течение четырех недель выращивали в водной культуре на среде Гиба при температуре 24/18°С (день/ночь), освещении 6000 лк и фотопериоде 10 ч. ЖАК в конечной концентрации 0,1 мкМ вносили в питательную среду, инкубация – 24 ч. После инкубации на среде с ЖАК растения переносили на питательную смесь без фитогормона и часть из них подвергали солевому стрессу внесением 200 мМ NaCl. Через 24 ч инкубации с NaCl среду в соответствующих вариантах опыта заменяли обычной средой Гиба.

Под влиянием ЖАК в листьях растений арабидопсиса дикого типа повышалась активность Cu,Zn-супероксиддисмутазы (СОД), каталазы и гваяколпероксидазы. В то же время в листьях мутанта *jin1* активность антиоксидантных ферментов после воздействия ЖАК достоверно не изменялась. После инкубации на среде, содержавшей NaCl, у растений дикого типа активность СОД существенно не изменялась, как в вариантах с обработкой ЖАК, так и без нее, а активность каталазы несколько снижалась. При этом отмечалось значительное увеличение активности гваяколпероксидазы. У растений дикого типа, предварительно обработанных ЖАК, в условиях солевого стресса абсолютные величины активности всех трех ферментов были выше, чем у не обработанных. У растений мутанта *jin1*, как и у растений дикого типа, активность СОД после воздействия NaCl не изменялась. В то же время у линии *jin1* при солевом стрессе активность каталазы снижалась более существенно, чем у растений дикого типа. После солевого стресса активность гваяколпероксидазы у растений *jin1* повышалась, однако этот эффект был менее заметным, чем у растений *Col-0*. Предобработка ЖАК не сказывалась на активности СОД и каталазы в листьях мутантов *jin1* в условиях солевого стресса. При этом активность гваяколпероксидазы в листьях растений *jin1*, обработанных ЖАК, после действия засоления была несколько выше, чем у не обработанных.

Засоление вызывало снижение содержания хлорофиллов в листьях растений дикого типа и *jin1*. Предварительная обработка ЖАК растений *Col-0* способствовала сохранению нормального содержания фотосинтетических пигментов после солевого стресса, а у мутантов *jin1* положительное влияние ЖАК на этот показатель проявлялось слабо.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что транскрипт-фактор MYC2/JIN1 участвует в индуцировании ЖАК антиоксидантной системы и, возможно, в других реакциях, необходимых для сохранения клеточного гомеостаза растений в условиях солевого стресса. В то же время небольшое влияние ЖАК на активность антиоксидантных ферментов и содержание фотосинтетических пигментов при солевом стрессе проявлялось и у мутантов *jin1*, что указывает на наличие альтернативных сигнальных путей, не связанных с транскрипт-фактором MYC2/JIN1, с помощью которых частично реализуется защитное действие экзогенной ЖАК.

ВОЗДЕЙСТВИЕ БРАССИНОСТЕРОИДОВ НА РОСТ *PHALAENOPSIS HYBRIDUM* BLUME В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

The effect of brassinosteroids on growth of *Phalaenopsis hybridum* Blume *in vitro*

Батулев А.В.[1], Черныш М.А.[1], Дронов С.М.[1], Жабинский В.Н.[2], Хрипач В.А.[2], Демидчик В.В.[1]

[1] *Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь; dzemidchyk@bsu.by*

[2] *Институт биоорганической химии, НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

При размножения орхидей часто используются методы вегетативного клонирования *in vitro*. В целях стимуляции роста и контроля процессов развития в условиях *in vitro* в среду выращивания вводятся фитогормоны, главным образом, ауксины и цитокинины, а также некоторые органические добавки. Однако скорость роста орхидей в асептических культурах очень не велика. В этой связи актуален поиск химических агентов, способных ускорить ростовые процессы у орхидей в условиях *in vitro*. Значительный объем экспериментальных данных указывает на возможность использования брассиностероидов (БС) в качестве регуляторов роста и развития различных групп растений, в том числе в условиях асептической культуры. Расшифрованы молекулярные механизмы воздействия БС на растения, показана их роль в качестве синергистов сигнальных путей ауксинов и участие в регуляции генетических программ развития. Для представителей рода *Phalaenopsis* влияние БС на ростовые процессы в условиях *in vitro* не изучено.

Целью настоящей работы было установление характера воздействия брассиностероидов на рост *Phalaenopsis hybridum* Blume в культуре *in vitro*. Брассиностероиды, использованные в работе, были синтезированы в Институте биоорганической химии НАН Беларуси. Было протестировано влияние 10^{-8}–10^{-6} М эпикастастерона (ЭК), гомокастастерона (ГК), эпибрассинолида (ЭБ) и гомобрассинолида (ГБ) на рост протокормов *Phalaenopsis hybridum* Blume. БС вводились в среду, их эффект сравнивался с действием ауксинов (0,1-1 мг/л).

Культура протокормов генерировалась их семян *Phalaenopsis hybridum* Blume, полученных из обработанного 96% C_2H_5OH плода (обжиг). Семена проращивались на безгормональной среде Fast (0,8% агар, темнота, 25°С, 90 сут), дополненной сахарозой (12 г/л), фруктозой (8 г/л), пептоном (2 г/л), дрожжевым экстрактом (2 г/л), активированным углем (2 г/л), мезоинозитом (10 мг/л), ЭДТА-Na_2 (32 мг/л)/$FeSO_4$ (28 мг/л) и гуматом калия (10 мг/л). Проросшие семена переносились на свет (фотопериод 16 ч; 200 мкмоль фотонов $м^{-2}$) на 30 сут, что приводило к формированию первичной культуры протокормов. Выделенные из нее протокормы переносились на среды, содержащие различные уровни брассиностероидов или ауксинов, в зависимости от условий эксперимента. Анализировалось изменение их длины и массы протокормов на 60 сут после переноса на среды с тестируемыми агентами.

Введение в среду БС вызывало усиление ростовых процессов, что выражалось в увеличении длины клонированных протокормов. Наибольшим стимулирующим эффектом обладал ЭБ, который уже в концентрации 10^{-8} М вызывал увеличение скорости роста примерно в 2,5 раза по сравнению с контролем. Более высокие уровни ЭБ (10^{-7} и 10^{-6} М) не вызывали дополнительного увеличения скорости роста. Таким образом, для данного стероида, вероятно, наблюдалось насыщение стимулирующего действия при 10^{-8} М или более низких концентрациях. В случае ГБ наблюдалась стимуляция роста на 25-30% при 10^{-8} М, однако эффект усиливался с ростом концентрации, достигая 90-100% при 10^{-6} М. ЭК и ГК демонстрировали тенденцию к стимуляции роста при 10^{-8} М, но статистически-достоверную прибавку в данном показателе вызывали только при 10^{-7} М. Тем не менее, оба этих БС вызывали близкий к ЭБ и ГБ эффект при 10^{-6} М. Можно ожидать потенциальный выход на насыщение по эффекту стимуляции роста для ГБ, ЭК и ГК при их более высоких уровнях в среде.

Было проведено сравнение эффекта БС с классическими эффектами ауксинов. Среди ауксинов максимальным стимулирующим влиянием обладала 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4-Д). Добавление в среду 0,3 и 1 мг/л 2,4-Д приводило к увеличению скорости роста протокормов почти на 100%. Индолил-3-уксусная кислота (ИУК) оказывала на 20-30% более слабый эффект. Индолил-3-масляная кислота (ИМК) обладала наименьшим стимулирующим действием среди протестированных ауксинов. Для нее не наблюдалась достоверная стимуляция при 0,1 и 0,3 мг/л и лишь 30-40% эффект при 1 мг/л. Вероятно, эффекты ИМК и ИУК могут выходить на насыщение при более высоких уровнях.

Кроме стимуляции длины анализировалось изменение массы. Полученные данные продемонстрировали схожий характер воздействия БС. Наибольшим стимулирующим эффектом обладал ЭБ. Он вызывал увеличение массы в 3 раза по сравнению с контролем уже в концентрации 10^{-8} М. Максимальным стимулирующим действием среди ауксинов обладала 2,4-Д, которая в концентрации 1 мг/л оказывала близкий к ЭБ эффект.

В целом полученные результаты указывают на стимулирующее влияние БС на рост культуры протокормов *Phalaenopsis hybridum* Blume. Проведенный в работе сравнительный анализ влияния БС и ауксинов показал, что БС являются стимуляторами роста микроклонов орхидей, сопоставимых и даже превосходящих ауксины. Интересным фактом, обнаруженным в работе также является мощный стимулирующий эффект 2,4-Д, неописанный ранее в литературе.

ВОЗДЕЙСТВИЕ МЕТАЛЛ-СОДЕРЖАЩИХ НАНОЧАСТИЦ НА ВЫСШИЕ РАСТЕНИЯ

The effect of metal-containing nanoparticles on higher plnats

Демидчик В.В.[1], Кирисюк Ю.В.[2], Сосан А.[3], Колбек И.[3], Лоусон Т.[3], Стрельцова Д.Е.[1], Тюркина Е.П.[1], Смолич И.И.[1], Соколик А.И.[1]

[1] Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь; dzemidchyk@bsu.by; [2] Брестский государственный университет, Брест, Беларусь; [3] Университет Эссекса, Колчестер, Великобритания

Наночастицы (НЧ) – твердотельные объекты, один из размеров которых не превышает 100 нм. Наночастицы приобретают ряд уникальных физических и химических свойств, связанных с малыми размерами. Эти свойства активно используются в промышленности. Наночастицы находят все более широкое применение, и к настоящему времени в мире официально зарегистрировано около 1700 коммерческих продуктов на их основе. Наибольшее количество наночастиц изготавливается на основе металлов и оксидов металлов. Самым массовым наноматериалом, входящим в состав почти трети всех зарегистрированных «нанопродуктов», является так-называемое «наносеребро». Несколько реже в промышленности используются наночастицы меди, цинка, золота, оксидов титана и железа. Несмотря на многие позитивные аспекты использования наночастиц, имеются и значительные риски, связанные с их токсичностью для живых систем. В последние годы четко показано, что наночастицы металлов накапливаются в биосфере (в США отмечены уровни 8-10 мг Ag-НЧ/кг сырой почвы). Они токсичны для животных, у которых вызывают целый комплекс аллергических и воспалительных реакций, утрату пигментации, а на клеточном уровне оксидативный стресс, повреждение генетических структур и мембранного аппарата. Пагубное воздействие наночастиц отмечено для микроорганизмов и грибов. Одной из проблем в этой связи выступает подавление азотфиксации, разложения органики и микоризообразования. По сравнению с другими живыми системами высшие растения наименее изучены в плане влияния наночастиц. До сих пор плохо не понятны клеточные и молекулярные детерминанты воздействия наночастиц на организм растения. Практически отсутствуют работы с использованием модельных растительных систем. Наиболее важный вопрос – каким образом осуществляется первичный акт взаимодействия растительной клетки – остается открытым.

Целью настоящей работы являлось выявление закономерностей воздействия важнейших металл-содержащих наночастиц на растительный организм на уровне целого растения и отдельной клетки. Особый акцент был сделан на установление первичных актов распознавания наночастиц клеткой. Использовались растения *Arabidopsis thaliana* L. Были протестированы сферические наночастицы Ag, Cu, Fe_3O_4 и TiO_2 одинаковых размеров (40-50 нм в диаметре). Они добавлялись в гелевые среды, что способствовало их равномерному распределению в субстрате, либо вводились в виде взвесей, полученных при помощи обработки растворов ультразвуком. В ходе проведенных опытов было продемонстрировано, что наночастицы Ag и Cu ингибируют удлинение корней. Для наночастиц Ag эффект на рост основного корня проявлялся, начиная с 300 мг/л, достигая максимума при 3000-5000 мг/л. Для наночастиц Cu порог концентраций, оказывающих ингибирующее действие был ниже: при 5 мг/л происходило снижение скорости роста корня на 25-30%, а при 15 мг/л в три раза. Изменение площади поверхности листа регистрировалось при помощи системы FluorImager-CCD (Technologica, UK) в реальном времени в течение 9 сут параллельно с измерением параметра F_v/F_m (максимального квантового выхода фотосистемы II). В результате было показано, что наночастицы Ag и Cu оказывают ингибирующее влияние на рост листа при несколько более высоких уровнях, чем для корня. Параметр F_v/F_m, отражающий эффективность работы фотосинтетического аппарата, значительно снижался под действием наночастиц металлов (в среднем на 70%). Наночастицы Fe_3O_4 и TiO_2 не ингибировали рост растений и фотосинтез до уровня 10 г/л. Низкие концентрации НЧ вызывали небольшую стимуляуию роста корней.

Введение НЧ Ag и Cu в окружающий раствор практически мгновенно активировало рост цитоплазматической активности Ca^{2+} в клетках корня. Данный эффект снимался блокаторами Ca^{2+}-проницаемых катионных каналов. При добавлении данных НЧ также наблюдалась генерация активных форм кислорода (АФК) клетками корня. Опыты с использованием техники пэтч-кламп показали, что НЧ Ag способны активировать особую группу Ca^{2+}-проницаемых каналов, которая по биофизическим и фармакологическим свойствам схожа с механочувствительными каналами, ранее обнаруженными в данной системе. Также были проведены тесты с использованием спектроскопии электронно-парамагнитного резонанса. Они показали, что НЧ Ag не способны катализировать реакции Хабера-Вейса и генерацию гидроксильных радикалов в корне, но могут вызывать окисление аскорбиновой кислоты в интактных тканях. НЧ Cu были способны как к катализу синтеза гидроксила, так и разложению аскорбиновой кислоты. НЧ Fe_3O_4 и TiO_2 были редокс-инертны.

Таким образом, проведенные опыты показали, что наночастицы металлов могут вызывать ингибирующее влияние на рост растений и фотосинтез. Они распознаются растительной клеткой при помощи классических сигнальных путей, вовлекающих Ca^{2+} и АФК. Наночастицы металлов, вероятно, активируют механочувствительные каналы плазматической мембраны, а также разрушают важнейший антиоксидант клетки – аскорбиновую кислоту. Наночастицы меди способны генерировать гидроксильные радикалы непосредственно в тканях растения.

ГЕНЕРАЦИЯ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В КЛЕТКАХ МОХООБРАЗНЫХ В ОТВЕТ НА ЗАСОЛЕНИЕ: АНАЛИЗ ПРИ ПОМОЩИ ДИГИДРОЭТИДИУМА

Salt-induced generation of reactive oxygen species in mosses: analysis with dihydroethidium

Звонарев С.Н., Мацкевич В.С., Пржевальская Д.А., Демидчик В.В.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь; dzemidchyk@bsu.by

Известно, что около 2% растений способны расти на почвах с высоким содержанием NaCl. К их числу принадлежит ряд мхов, например, *Physcomitrella patens*. Мхи были одними из первых растений, которые «вышли» на сушу. Их предки, водоросли, обитали в соленой воде и имели хорошо развитые механизмы борьбы с избытком NaCl. В процессе эволюции наземные растения утратили часть этих механизмов, однако многие мхи их сохранили. В этой связи детальное исследование реакций клеток мохообразных в ответ на засоление представляет значительный интерес для понимания фундаментальных механизмов солеустойчивости.

Согласно данным исследований последних 10-20 лет важнейшим первичным механизмом токсичности Na^+ является вызываемый данным катионом ионный дисбаланс, проявляющийся в конкурентном вытеснении K^+ в физиологических реакциях и снижении его уровня в цитоплазме. Кроме вызываемой Na^+ деполяризации потеря K^+ клетками корня вызывается активацией наружу-выпрямляющих K^+-каналов под действием АФК, уровень которых резко возрастает при засолении. АФК также способны активировать вход Ca^{2+}, что может включать механизм выкачивания Na^+ системой SOS_{1-3}. Таким образом, АФК выполняют центральную роль при регуляции ответа на солевой стресс у растений. В этой связи анализ синтеза и накопления АФК имеет первостепенное значение при исследовании реакции растений на засоление. В последнее время особое внимание приобретает информация о продукции специфических АФК, таких как супероксид ($O_2^{\cdot -}$), гидроксил ($^{\cdot}OH$), перекись водорода (H_2O_2) и др., что позволяет судить об участии конкретных систем синтеза АФК и факторов регуляции АФК-метаболизма.

В настоящей работе была предпринята попытка анализа синтеза супероксидного радикала под действием NaCl в клетках *Physcomitrella patens* при помощи флуоресцентного зонда дигидроэтидиум (ДГЭ). В литературе отмечается высокая специфичность данного вещества к супероксидному радикалу по сравнению с другими флуоресцентными зондами. Для опытов генерировалась асептическая культура хлоронемы *Physcomitrella patens* (Hedw.) Bruch & Schimp (10 сут). Флуоресценция дигидроэтидиума регистрировалась при помощи фильтра FITC, что позволяло снизить влияние флуоресценции хлорофилла.

Добавление в среду NaCl свыше 200 мМ вызывало статистически-достоверное увеличение интенсивности флуоресценции ДГЭ (рост на 40-50% по сравнению с фоновыми значениями). Более высокие концентрации NaCl индуцировали более сильный эффект. При уровнях NaCl выше 300 мМ интенсивность флуоресценции достигала максимума. ДГЭ не обладает исключительной избирательностью к $O_2^{\cdot -}$, поэтому существует вероятность того, что NaCl вызывает генерацию нескольких типов АФК, например, таких как H_2O_2 и гидроксильный радикал, синтез которых был зарегистрирован ранее в растительных системах. Для выделения сигнала ДГЭ, связанного с синтезом $O_2^{\cdot -}$ была использована супероксиддисмутаза (СОД), а для анализа возможного синтеза H_2O_2 - каталаза. СОД снижала интенсивность флуоресценции в пробах с 200-300 мМ NaCl на 40-45%, а при действии 400 мМ NaCl почти на 60%. Это указывает на то, что как минимум половина регистрируемого сигнала ДГЭ приходилась на супероксид, а также, что доля супероксида в ДГЭ-сигнале возрастает при более высоких уровнях NaCl. Результаты тестирования влияния каталазы показали снижение интенсивности флуоресценции ДГЭ только в контрольной пробе. В пробах с NaCl снижение интенсивности флуоресценции не имело статистически-достоверных отличий. Таким образом, H_2O_2 не имел влияния на сигнал ДГЭ при солевом стрессе. Это свидетельствует о высокой специфичности ДГЭ к $O_2^{\cdot -}$ по сравнению с H_2O_2. В качестве $^{\cdot}OH$-связывающего агента была использована тиомочевина, так как это вещество, согласно литературным данным и нашим ЭПР-тестам, обладает наибольшей специфичностью связывания с гидроксил-радикалом по сравнению с другими антиоксидантами. Тиомочевина снижала интенсивность NaCl-индуцируемой флуоресценции ДГЭ при обработке 200 ммоль/л NaCl примерно на 30%, а при обработке 300 и 400 ммоль/л NaCl на 20%. Также было протестировано влияние на NaCl-индуцируемую флуоресценцию ДГЭ неспецифических антирадикальных агентов - восстановленного глутатиона, диметилсульфоксида и спермина. Все эти вещества подавляли NaCl-индуцируемую флуоресценцию ДГЭ на 40-50% при 200-300 мМ NaCl, и на 25-30% при 400 мМ NaCl.

Полученные данные показывают, что ДГЭ применим для изучени реакции синтеза АФК при солевом стрессе у мохообразных. Данное вещество демонстриурет высокую степень специфичности к супероксиду по сранению с перекисью водорода, но, вероятно, способно также детектировать гидроксильный и другие радикалы. Результаты работы также демонстрируют, что у мха *Physcomitrella patens* засоление вызывает синтез супероксидного и гидроксильного радикалов, который подавляется природными антиоксидантами, такими как СОД, восстановленный глутатион и спермин.

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ МАЛОИЗУЧЕННЫХ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА И РАЗВИТИЯ РАСТЕНИЙ НА УКОРЕНЕНИЕ ДЕКОРАТИВНЫХ ДЕРЕВЬЕВ И КУСТАРНИКОВ

The effect of some new growth regulators on rooting of woody plants

Колбанов Д.В.[1], Батулев А.В.[1], Легерова Е.О.[1], Донская И.И.[1], Сафонова О.Ю.[1], Каляга Т.Г.[1], Пржевальская Д.А.[1], Стрельцова Д.Е.[1], Жабинский В.Н.[2], Хрипач В.А.[2], Демидчик В.В.[1]

[1] *Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь; dzemidchyk@bsu.by*
[2] *Институт биоорганической химии, НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

Многие декоративные растения при переводе их в культуру *in vitro*, которая часто используется для их массового размножения, утрачивают ценный фенотип. Опыт микроклонального размножения также свидетельствует о высокой редандности древесных растений в асептической культуре. Кроме того, для многих питомников техника культуры *in vitro* и микроклональное размножение не доступны из-за отсутствия соответствующего оборудования и персонала. В этой связи основным способом размножения декоративных древесных форм с поддержанием сортового фенотипа остается черенкование с последующим укоренением.

Для стимуляции ризогенеза у черенков в независимости от вида растения практически во всех питомниках используется обработка ИМК (значительно реже ИУК), исследования в области скрининга новых перспективных корнестимуляторов практически не проводятся. В этой связи представлялось актуальным протестировать корнестимулирующую активность некоторых малоизученных в физиологическом плане химических агентов, таких как металл-содержащие наночастицы, низкомолекулярные антиоксиданты и гормоны стероидной природы.

В работе использовалась разработанная ранее методика черенкования и обработки корнестимуляторами, регистрация жизнеспособности и укоренения производилась на 60 и 300 сут после высадки в почву. Перед высадкой черенки обрабатывались в течение 24 ч суспензиями металлсодержащих наночастиц (Cu, Ag, Fe_3O и TiO_2), антиоксидантов (диметилсульфоксид - ДМСО, тиомочевина - ТМ, аскорбиновая кислота – АК, и спермин - СПМ) или брассиностероидами (гомобрассинолид, эпибрассинолид и эпикастастерон). В качестве негативного контроля использовалась обработка буферным раствором. Для положительного контроля тестировался диапазон концентрация ауксинов (10-100 мг/л ИМК, ИУК, НУК и 2,4-Д). Каждая обработка проводилась на 50-100 черенках. Протестировано было 7 видов: туя западная (*Thuja occidentalis* L. Smagard); ель обыкновенная (*Picea abies* L. Nidiformis); ель колючая (*Picea pungens* L.); барбарис Тунберга *(Berberis thunbergii* Dart`s Red Lady); кизильник блестящий (*Cotoneaster lucidus* L.); боярышник колючий (*Crataegus x media* Paul`s Scarlet), клен остролистный (*Acer platanoides* L. Drummondii).

Результаты учета укоренившихся, жизнеспособных и погибших черенков показали значительную видоспецифичность реакции на обработки различными агентами. В отрицательном контроле доля укоренившихся растений не превышала 5-10%. Без обработок не укоренялись ели и клены. Среди ауксинов выявилась четкая видовая специфичность (по лучшим результатам укоренения): туя западная (100 мг/л 2,4-Д - 34%); ель обыкновенная Nidiformis (50 мг/л ИМК – 82%); ель колючая (100 мг/л 2,4-Д – 10%); барбарис Тунберга (50 мг/л ИМК - 86%); кизильник блестящий (50 мг/л 2,4-Д - 28%); боярышник колючий (25 мг/л 2,4-Д - 10%); клен остролистный (25 мг/л 2,4-Д - 14%). Из этого следует, что ИМК и 2,4-Д обладали наиболее сильным стимулирующим эффектом. Стимуляция укоренения под действием металл-содержащих наночастиц наблюдалась в основном в случае наночастиц Ag, но не для всех растений: туя западная (100 мг/л - 42%); ель обыкновенная Nidiformis (100 мг/л – 28%); барбарис Тунберга (20 мг/л - 30%); клен остролистный (20 мг/л - 10%). Другие наночастицы не вызывали стимуляции укоренения, а добавление ионных форм металлов в некоторых случая приводило к ингибированию корнеобразования. Все протестированные антиоксиданты (1-10 мМ) стимулировали как жизнеспособность на 60 сут, так и окончательное укоренение черенков на 300 сут. Наиболее высокие значения по укоренению дали следующие пары растение/антиоксидант: туя западная/АК (62%)/СПМ (58%), ель обыкновенная/ДМСО (34%)/ТМ (26%), барбарис Тунберга/ДМСО (24%)/АК (22%); кизильник блестящий/ДМСО (24%); боярышник колючий/АК (32%); клен остролистный/ДМСО (24%)/ТМ (20%). Неожиданным результатом была высокая эффективность «ловушек радикалов» ТМ и ДМСО как укоренителей клена и туи, превышающая ауксины. Анализ воздействия брассиностероидов обнаружил, во-первых, их способность стимулировать укоренение черенков (ранее не известное в литературе явление) на уровне близком к ауксинам, во-вторых, показал высокую эффективность брассиностероидов для тех видов, для которых ауксины малоэффективны (боярышник, клен, ель колючая), в-третьих, неожиданно высокую активность эпикастастерона как укоренителя.

Таким образом, данные скрининга новых укоренителей показали, что обработка наночастицами серебра, низкомолекулярными антиоксидантами и брассиностероидами вызывают значительную стимуляцию жизнеспособности и укоренения черенков некоторых важных декоративных растений, в некоторых случаях превосходящую эффект обработки ауксинами.

РАЗВИТИЕ НЕКОТОРЫХ СИМПТОМОВ ЗАПРОГРАМИРОВАННОЙ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ В КОРНЕ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ В ОТВЕТ НА АБИОТИЧЕСКИЕ СТРЕСС-ФАКТОРЫ

The development of programmed cell death symptoms in roots of higher plants in response to abiotic stresses

Мацкевич В.С.[1], Звонарев С.Н.[1], Кирисюк Ю.В.[2], Демидчик В.В.[1]

[1] *Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь; dzemidchyk@bsu.by*
[2] *Брестский государственный университет, Брест, Беларусь*

Запрограммированная клеточная гибель (ЗКГ) - важнейший физиологический процесс у всех эукариот, играющий основополагающую роль в развитии и выживании многоклеточных организмов. Хорошо известна функция ЗКГ в качестве защитного механизма при биотическом стрессе, однако развитие ЗКГ, особенно в клетках корня, при абиотических воздействиях изучено слабо. Целью настоящей работы было апробирование подходов анализа морфологических симптомов ЗКГ, изменения жизнеспособности клеток, синтеза активных форм кислорода (АФК), а также активации протеаз ЗКГ в трихобластах и атрихобластах эпиблемы *Arabidopsis thaliana* L. Heynh. при обработке NaCl, Ni^{2+} и смесями, генерирующими гидроксильные радикалы (1 мМ $CuCl_2$, L-аскорбиновая кислота и H_2O_2). Тесты проводились на растениях дикого типа (WS), а также нокаутах *gork1-1* (GORK1) и *rhd2-1* (RBOHC), лишенных наружу-выпрямляющего K^+-канала и функциональных НАДФН-оксидазы С, соответственно. K^+-канал GORK1 является основной системой, катализирующей выход K^+ из клеток корня в различных физиологических состояниях, включая стрессовые. НАДФН-оксидазы ответственны за Ca^{2+}-зависимую генерацию супероксидного радикала и других АФК при стрессе и росте клетки удлинением.

Среди адаптированных в настоящей работе тестов ЗКГ ризодермы наибольшую чувствительность продемонстрировали морфологические тесты (конденсация протоплазмы, образование темных телец, повреждение плазматической мембраны и т.д.), а также оценка активности каспазоподобных протеаз (CaspACE™ FITC-VAD-FMK In Situ Marker; Promega). Оценка жизнеспособности с использованием Evans Blue и флуоресцеиндиацетата показала высокую чувствительность в случае оксидативного стресса и NaCl (150-400 мМ), но не давала достоверных отличий по сравнению с контролем в случае Ni^{2+} (0,1-5 мМ). Оксидативный стресс индуцировал морфологические симптомы ЗКГ и активацию протеаз в ризодерме, прогрессирующие в течение 2 сут и приводящие к практически полному отмиранию данной ткани. Доля клеток с симптомами ЗКГ была выше у растений дикого типа, чем у растений *gork1-1* и *rhd2-1.* Это указывает на вовлечение белковых продуктов генов gork1-1 и rhd2-1 в развитие ЗКГ в корне. Стресс, вызываемый летальной концентрацией Ni^{2+}, приводил к прогрессирующим морфологическим изменениям внутри клетки, характерным для ЗКГ, и индукции протеаз. Эти процессы развивались медленнее у *gork1-1*, однако не показывали достоверного отличия у растений *rhd2-1.* Засоление (400 мМ NaCl) приводило к быстрому развитию морфологических и биохимических признаков ЗКГ, которые проявлялись слабее у растений *rhd2-1.* Ионы гадолиния (блокатор Ca^{2+}-каналов) подавляли развитие симптомов ЗКГ в ответ на оксидативный стресс и Ni^{2+}. Это свидетельствует об участии Ca^{2+}-проницаемых катионных каналов в развитии ЗКГ в эпиблеме. Ионы тетраэтиламмония (блокатор K^+-каналов) в значительной степени снижали скорость развития симптомов ЗКГ при оксидативном стрессе и в меньшей степени при засолении, однако они проявляли незначительное действие по отношению к избытку Ni^{2+}. Тиомочевина, представляющая собой агент, устраняющий гидроксильные радикалы, резко снижала скорость появления симптомов ЗКГ при оксидативном стрессе и воздействии избытка Ni^{2+}. Корневые волоски демонстрировали большую скорость развития симптомов ЗКГ при абиотических стрессовых воздействиях, чем зрелые атрихобласты. Развитие симптомов ЗКГ коррелировало с синтезом АФК (анализ по накоплению флуоресценции дигироэтидиума).

В настоящей работе было установлено, что в большинстве случаев у растений дикого типа развитие симптомов ЗКГ происходит быстрее, чем у растений *gork1-1* и *rhd2*, лишенных функционального наружу-проводящего K^+-канала и основной системы синтеза экзогенных АФК (НАДФН-оксидазы типа С) в корне, соответственно. Кроме того, блокаторы катионных каналов снижали долю клеток, имеющих симптомы ЗКГ, в особенности, в случае влияния оксидативного стресса. Таким образом, можно предложить следующую последовательность ранних стадий ЗКГ, вовлекающих системы плазматической мембраны клеток ризодермы: 1) рецепция на уровне ионных каналов или деполяризация (при засолении) вызывает вход Ca^{2+}, приводящий к активации НАДФН-оксидаз, генерирующих АФК; 2) Ca^{2+}-проницаемые каналы дополнительно активируются АФК; 3) наружу-проводящие K^+-каналы активируются деполяризацией и АФК; 4) K^+- и Ca^{2+}-зависимые каспазоподобные протеазы начинают разрушение структурных белков и ферментов. Данные, приведенные в настоящей работе показывают, что регуляция и контроль развития ЗКГ может также осуществляться на уровне биосинтеза гидроксильного радикала (эффект тиомочевины).

THE DYNAMIC PHENOMENA OF PLANT MITOCHONDRIA: FUNCTIONAL IMAGING *IN VIVO*

Динамические феномены митохондрий растений: функциональный имиджинг *in vivo*

Abdrakhimova Y.R. [1,2], **Abdrakhimov F.A.**

T imiryazev Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia
Kazan Federal (Volga region) University, Kazan, Russia; yoldez.abdrahimova@kpfu.ru
Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, Kazan Scientific Center of Russian Academy of Sciences, Kazan, Russia

Mitochondria play a key role in cellular metabolism providing for growth and develop processes with energy and building blocks as well as in its regulation under irregular environmental changes. Fundamental feature of respiratory machinery is to generate mitochondrial inner membrane potential (A^Fm) by proton extruding from the matrix coupled with electron flux through the electron transport chain; a reverse proton-driving force is well-known to be used for ATP synthesis and other vital intracellular needs. Although constitutive, single-electron leakage from the respiratory chain gives by-products as primary reactive oxygen species (ROS), mainly superoxide radical, there are multiple ROS-scavenging systems including mitochondrial ones to support cellular ROS balance. For a long time, ROS elevation is commonly interpreted as unfavorable consequence of antioxidant inefficiency often resulting in oxidative stress and even cell death. To date, a novel, paradigm-shifting, concept is that ROS overproduction underlies not only oxidative imbalance, but also active and signaling nature dynamic events such as recently discovered extracellular ROS/Ca^{2+} waves and discrete mitochondrial flashes, named 'mitoflashes'.

In contrast to the flashless basal ROS production, bursting ROS generation is so brief and highly localized being undetectable for determination by the routine methods. There were revolutionary, innovative improvements in fluorescence microscopy for the last two decades given a great advance in higher spatial and temporal resolutions that allowed researchers to visualize a quantal event at the level of individual mitochondrion. Although the phenomenon of mitochondrial flashes has been discovered as transient fluorescence increasing of ROS-biosensors, at the present time the interpretation of the data, particularly received by using cpYFP, are disputed. According to pH hypothesis supported by data from *Arabidopsis,* mitoflashes seem to reflect rather transient matrix alkalization than changes in ROS signal (Schwarzlander et al., 2012). Thus, the phenomenon of mitoflashes in plant mitochondria has not been yet clear demonstrated that may be accounted for serious, still insurmountable limitations of plant-adjusted imaging approaches due to intrinsic structural and functional features of plant cell (e.g., cell wall, plastids, intensive cyclosis, and etc.). Another striking quantal event, flicker or pulse, is accompanied by abrupt, transient (over the second ranges) depolarization of A Ym, which dynamics can be monitored using the cationic lipophilic fluorescent dye, tetramethyl rhodamin methyl ester (TMRM), at the single-mitochondrion level in a real-time manner.

Using confocal laser-scanning microscopy in combination with appropriate fluorescent dyes (DCF and TMRM), we clarified whether these phenomena could be demonstrated *in vivo* and, if so, might they reflect functional activity of experimental systems and their stress-induced responses? For elucidation of the correlation with each other, the dynamics were investigated after double-labeling of samples (intact epidermal cells) and subsequent multitracking analysis. Objects-to-be-tested were etiolated early-growth seedlings of different agricultural species from mono- and dicotyledons undergone low positive temperatures as well as field winter cereals during autumn acclimation. It should be noted that incidents of the phenomena have been shown for all studied objects. Thus, we firstly have received a strong experimental evidence of reproducible mitoflashes and flickers of plant mitochondria *in vivo* displaying *per se* fundamental and universal properties of the organelle of living cells. Moreover, diverse modes of dynamics of mitochondrial ROS bursting and membrane pulsing, and also their relationships, have been revealed, compared to animal analogs. The features of the processes were widely modulated in response to stress treatments and some pharmacological manipulations, among them blocking of cytoskeleton polymerization. According to obtained results, there was an average rate of 10.2 pulses per min per 100 mitochondria or per 1000 μm^2 cell area (680 mitochondria from n=12 cells/coleoptiles) for winter wheat *(Triticum aestivum* L., cv. Mironovskaya 808) seedlings under control conditions. After low positive temperature treatments (2-3 C, 3d), the pulsing activity dropped to 0.8 and 0.4 per 100 mitochondria and 1000 μm^2, accordingly (845 mitochondria from n=14 cells/coleoptiles). This fact unambiguously indicates that pulsing frequency depends on the metabolic activities of cells and also the cytoskeleton state, the changes of which have been observed concurrently via reversible inhibition of mitochondrial movement in response to cold treatments. It should be stressed that despite different pharmacological manipulations both another's and our own, the causal, triggering mechanisms of initiation of these processes remain obscure. To sum up, though being an array of challenging questions, the approaches for functional imaging are a new 'devises' readable the multifaceted processes of mitochondrial bioenergetics and ROS signaling, and so the dynamic quantal events may serve as a reliable 'digital' readout reflecting mitochondrial and cellular energy metabolism and its stress-induced changes *in toto*.

CHROMOSOME PAINTING IN PLANTS: A USEFUL ART

Betekhtin A.[1], Idziak D.[1], Jenkins G.[2], Kus A.[1], Kwasniewska J.[1], Langdon T.[2], Robaszkiewicz E.[1], Susek K.[3], Wolny E.[1], Hasterok R.[1]

[1] *Department of Plant Anatomy and Cytology, Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Silesia in Katowice, Katowice, Poland; abetekht@us.edu.pl*
[2] *IBERS, Aberystwyth University, Edward Llwyd Building, Penglais, Ceredigion, SY23 3DA, Aberystwyth, United Kingdom*
[3] *Institute of Plant Genetics, Polish Academy of Sciences Gene Structure and Function Team, 60-479 Poznan, Poland*

The term ”chromosome painting” (CP) refers to a method of visualization of large chromosome regions or whole chromosomes based on fluorescence *in situ*hybridization (FISH) with chromosome-specific DNA probes. CP is a powerful method for identification of chromosomes and chromosome aberrations for diagnostic purposes (Ferguson-Smith, Eur. J. Hum. Genet., 1997), mutagenicity testing (Marshall and Obe, Environ. Mol. Mutagen., 1998) and for studies of karyotype evolution (Wienberg and Stanyon, Current Opinion Genet. Dev, 1995). For a long time CP was successfully appliedonly tohuman and animal chromosomes. Efforts to establish this technique for plants did not yield reproducible results, due to the presence of vast amounts of ubiquitous repetitive DNA in most plant genomes. The first successful attempt of CP on plant material (the dicotyledonous model organism, *Arabidopsis thaliana*) was reported in 2001 by Lysak et al. (Plant J. 28: 689-697). We have successfully applied the CP methodology to investigate the monocotyledonous plant *Brachypodium distachyon (Idziak et al., Chromosoma, 2011; Betekhtin et al., PLOS One, 2014)*.

B. distachyon has recently been adoptedby the world scientific community as a model organism for temperate cereals and grasses. It is also the first representative of the Pooideae subfamily whose nuclear genome has been fully sequenced (IBI, Nature 2010). It has been shown that the*B. distachyon* genome is syntenic with the most economically important cereals, such as wheat, barley and oats (Huo *et al.*, Plant. Mol. Biol. 2009). *B. distachyon* has many qualities that make it a useful model for functional genomics studies in temperate grasses, including key cereals and dedicated biofuel crops. These characteristics include a favourable phylogeneticposition within the Pooideae subfamily, a small(~300 Mbp) nuclear genome,a low amount ofrepetitiveDNA,a low number of chromosomes, small physical stature,shortlifecycle, undemanding growthrequirements and self-fertility (IBI, Nature, 2010).

In this presentation we present and discuss comparative chromosome painting (CCP) in plants with particular emphasis on the genus *Brachypodium*.

The authors acknowledge financial support from the Polish National Science Centre (grants no. 2012/04/A/NZ3/00572 and 2014/14/M/NZ2/00519).

THE EFFECT OF POLYAMINES ON THE RESPONSE OF ROOT CELL TO SALINITY

Demidchik V.[1], Svistinenko D.[2], Subramaniam S.[2], Straltsova D.[1], Tiurkina K.[1], Sosan A.[2], Pozhvanov G.[3], Medvedev S.[3], Sokolik A.[1]

[1] *Belarusian State University, Minsk, Belarus; dzemidchyk@bsu.by*
[2] *University of Essex, Colchester, United Kingdom*
[3] *Saint-Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russia*

The early response of root cells to salinity includes the elevation of cytosolic free calcium ($[Ca^{2+}]_{cyt}$) and generation of reactive oxygen species (ROS), particularly hydroxyl radicals. These reactions trigger intracellular salt stress signalling cascades leading to adaptation or programmed cell death (PCD). Polyamines are widely considered as being protecting agents against NaCl toxicity. Nevertheless, the mechanisms by which they protect plants are still unclear. Here, using electron paramagnetic resonance spectroscopy, we show that polyamines decrease production of hydroxyl radicals both *in vitro* (Fenton-like mixture) and *in vivo* (NaCl-treated plants). NaCl-induced Ca^{2+} entry (measured by aequorin luminometry) significantly decreased under polyamine treatment but did not disappear. The polyamine treatment also stopped PCD protease activation by NaCl by prevented membrane potential collapse. Both salt and hydroxyl radicals induced dramatic modification of cytoskeleton (in GFP-FABD2 *Arabidopsis* roots; confocal microscopy), which was prevented by polyamines. The capacity to prevent the NaCl-induced effects decreased as follows: spermine>spermidine>putrescine. Overall, these data demonstrate that polyamines act on NaCl effects through scavenging hydroxyl radicals and preventing hydroxyl/Ca^{2+}-mediated PCD. At the same time, they do not stop Ca^{2+} signalling, which is important for adaptation to salt stress. To our knowledge, this is the first mechanistic explanation for polyamine protective action on stressed roots.

BRACHYPODIUM – A MODEL GENUS TO STUDY GRASS GENOME ORGANISATION AT THE CYTOMOLECULAR LEVEL

Hasterok R.[1], Betekhtin A.[1], Borowska-Zuchowska N.[1], Braszewska-Zalewska A.[1], Chwialkowska K.[2], Idziak D.[1], Kus A.[1], Kwasniewska J.[1], Kwasniewski M.[2], Robaszkiewicz E.[1], Wolny E.[1]

[1] *Department of Plant Anatomy and Cytology, Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Silesia in Katowice, Katowice, Poland; E-mail: hasterok@us.edu.pl*
[2] *Department of Genetics, Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Silesia in Katowice, Katowice, Poland*

Cytogenetics focuses on the study of nuclear genomes at the microscopic level. In its modern incarnation, known as molecular cytogenetics, it represents a multidiscipline that amalgamates various methodological approaches of cytology and molecular genetics as well as advanced microscopy, flow cytometry and digital image processing. In contrast to animals, the organisation of plant genomes at the cytomolecular level is still relatively poorly studied and understood. However, the *Brachypodium* genus in general and *B. distachyon* in particular represent exceptionally good model systems for such study. This is due not only to their highly desirable 'model' biological features, such as small nuclear genome, low chromosome number and complex phylogenetic relations, but also to the rapidly and continuously growing repertoire of experimental tools, such as large collections of accessions, whole genome sequence information, large insert (bacterial artificial chromosome; BAC) libraries of genomic DNA, etc. Advanced cytomolecular techniques, such as fluorescence *in situ* hybridisation (FISH) with evermore sophisticated probesoffer unprecedented insight into chromatin organisation at various phases of the cell cycle. A good example is chromosome painting which uses pools of chromosome-specific BAC clones, and enables the tracking of individual chromosomes not only during cell division but also during interphase.

This presentation outlines the present status of molecular cytogenetic analyses of plant genome structure, dynamics and evolution using *B. distachyon* and some of its relatives. The current projects focus on various aspects of grass genome organisation, such as (i) karyotype structure and evolution, (ii) distribution of chromosome territories within the nucleus, (iii) dynamics of epigenetic modifications of chromatin during embryo development and cell differentiation, (iv) true nature of selective silencing of rRNA genes in some *Brachypodium* allopolyploids, (v) instability of a small grass genome subjected to a mutagenic treatment.

The authors acknowledge financial support from the Polish National Science Centre (grants no. 2012/04/A/NZ3/00572 and 2014/14/M/NZ2/00519).

CELL WALLS CONTROL RHYTHMICAL GROWTH CHANGES IN *ARABIDOPSIS THALIANA* HYPOCOTYLS

Клеточные стенки контролируют ритмические изменения роста в гипокотилях *Arabidopsis thaliana*

Ivakov A.A.[1], Flis A.[2], Suslov D.V.[3,4], Apelt F.[2], Fünfgeld M.[2], Kragler F.[2], Scherer U.[2], Stitt M.[2], Vissenberg K.[3], Persson S.[1]

[1] The University of Melbourne, Melbourne, Australia; aivakov@unimelb.edu.au; [2] Max Planck Institute of Molecular Plant Physiology, Potsdam, Germany; MStitt@mpimp-golm.mpg.de; [3] University of Antwerp, Antwerp, Belgium; kris.vissenberg@uantwerp.be; [4] St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia; souslov@mail.ru

Plant growth involves two interrelated processes: the biosynthesis of biomass being primarily defined by photosynthetic carbon assimilation and the irreversible increase in volume driven by osmotic water uptake into cells, which is controlled by cell wall extensibility. We aimed at studying the regulation of these two processes in the course of rhythmical growth rate changes in *Arabidopsis thaliana* hypocotyls when grown in diurnal cycles. The diurnal variation in growth is known to depend on the interplay between light signaling, endogenous circadian clock, as well as metabolic inputs.

Arabidopsis plants were grown in 4 h light/20 h darkness cycles. Under these conditions they demonstrated prominent rhythms in the rate of their hypocotyl elongation. Expansion growth peaked at the end of the night (EN) followed by a several-fold decrease with a minimum observed at the end of the day (ED). The rate of cell wall biomass accumulation in hypocotyls was estimated from cellulose synthesis, which is the most abundant component of plant dry matter. Cellulose synthesis was approximated by the speed of fluorescently-labelled CesA complexes movement in the plasma membrane and the number of complexes per unit cell surface area. Cell wall extensibility was estimated using frozen/thawed arabidopsis hypocotyls extended by the constant load (creep) method.

When grown in the absence of sucrose, plasma membrane CesA particles were absent at the end of the night, began appearing in large numbers in the middle of the light period and became abundant at the end of the day. They disappeared from the plasmalemma during the dark period while accumulating in small cellulose-synthase-containing compartments (SmaCC's) just beneath the plasma membrane. In a set of experiments, plants were placed in extended darkness without sucrose, fed with exogenous sucrose while in darkness and treated with a photosynthesis inhibitor (DCMU), as well as being grown in 4 h light/20 h dark photoperiod in the constant presence of sucrose. It was concluded that the rate of cellulose synthesis in growing cells is regulated through the trafficking of CesA particles between the plasma membrane and intracellular compartments and not their movement speed. The availability of metabolisable sugars from photosynthesis or the growth medium is necessary and sufficient to trigger CesA mobilization to the plasma membrane while light signaling or endogenous rhythms do not appear to be involved.

Cell wall extensibility of EN hypocotyls grown on sucrose frozen at the peak of their growth was compared with that of ED hypocotyls taken at the moment when their growth rate was minimal. Cell walls were stretched under 1.2, 1.6 and 2.0 g loads to estimate the action of different turgor on their extension. Creep was measured at pH 6, pH 5 and pH 5 with heat inactivation. pH 5 is optimal for the activity of expansins, cell wall proteins mediating the "acid growth" response. Expansins lose their activity at pH 6, which is, however, optimal for the action of different enzymes (XTH and others) implicated in cell wall extensibility regulation. Heat inactivation is considered to eliminate essentially all cell wall enzyme activities. The extensibility of EN hypocotyls was 1.7-2.7 higher than that of ED hypocotyls at pH 5, the effect was only observed under higher loads (1.6 and 2.0 g). A comparable difference between EN and ED was seen at pH 6, but it was significant under lower loads (1.2 and 1.6 g). Heat inactivation completely eliminated differences in extensibility between EN and ED. Thus, cell wall extensibility changes do explain the diurnal variation of growth rate in arabidopsis hypocotyls. These changes are mediated by at least two groups of cell wall proteins: ones active at pH 5 and high loads and others active at pH 6 and low loads. In a different experiment arabidopsis plants were grown in 4 h light/20 h darkness cycles for four days followed by extended light for two more days. Even under continuous light, growth rhythms were observed every 24 h confirming their regulation by the circadian clock. The peak of growth was, however, shifted forward taking place at the end of the "day" ("ED") decreasing to the minimum at the start of the "day" ("SD"). Cell wall extensibility mirrored these growth rate changes being 2.2-2.7-fold higher in "ED" versus "SD" at pH 5 under higher loads (1.6 and 2.0 g). No differences between "ED" and "SD" were observed at pH 6 or pH 5 with heat inactivation. Thus only proteins active at pH 5 seem to by regulated by the circadian clock. Interestingly, mutant *elf3* plants with a defect in the circadian clock grew at a very high, nearly-constant rate in continuous light and demonstrated no differences in extensibility between "ED" and "SD" hypocotyls at pH 5, confirming that the circadian clock directly controls the fluctuations in wall mechanics in continuous light.

To sum up, we have found that large differences in hypocotyl growth rates during diurnal cycles can occur under relatively constant rates of biomass synthesis. The rate of biomass accumulation is critically dependent on the availability of metabolisable carbon while being not directly affected by light signalling, the circadian clock or changes in the rate of cell wall expansion acting through cell wall mechanics. Diurnal rhythmical growth rate changes are controlled by proteins modulating cell wall extensibility. Some of these proteins were shown to be regulated by the circadian clock, while others appear to depend on light or metabolic signals.

HEAT PRODUCED AND THE EFFECT OF CHEMICAL TREATMENT ON GERMINATING COMMON BEAN (*PHASEOLUS VULGARIS*) SEEDS

Kakilla C.E., Bochkaeva Z.

Department of Biotechnology and Bioinformatics, School of Biological Sciences, College of Natural and Mathematical Sciences, University of Dodoma, Dodoma, Tanzania
kakillacharles@gmail.com, adyanova@gmail.com

Common bean (*Phaseolus vulgaris*) plant is widely used in most regions of Tanzania as food crop. During farming seasons, agriculturalists and small farmers experience fewer yield due to poor germination of the seeds in field, especially in areas with high mean annual temperatures, such as Dodoma district, Tanzania. The promotion of crop yield by chemical priming of seeds is still debatable. This experiment was done to examine the effect of NaCl and HCl treatment on bean seeds germination. Seeds were treated with different concentrations of HCl and NaCl: 0.125 M, 0.25 M, 0.5 M and 1 M, and after that the produced heat, as a characteristic of metabolism rate, as well as germination rates were measured. Chemicals, HCl and table salt NaCl were selected for the study because they are affordable for Tanzanian farmers. At the end of experiment, data of seedling fresh weights (g), lengths (cm) of emergent radicle, germination percentage, germination index, mean germination time, and germination rate were recorded.

Comparative analysis of produced heat by the respiring seeds showed the maximum temperature increase after priming by small concentration, 0.125 M, of both HCl and NaCl in the third day of germination: an increase of 2.6°C and 1.6°C respectively comparing to increase of 1°C only in a case of non-treated seeds (control). The higher concentrations of both HCl and NaCl showed less heat production opposed to control. Germination percentage and germination rate were shown to be affected by concentrations. Moreover, notable decrease in radicle length as per increase in concentration was noted, this could have resulted due to delayed germination time in primed seeds.

The results show that priming with NaCl and HCl in Dodoma district climate is ineffective for bean seeds (*Phaseolus vulgaris*), although effect of chemical concentration affect germination percentage and germination rate. And doesn't matter the increase of heat produced by seeds treated with small concentrations of studied chemicals, it doesn't influence the germination yield significantly.

MOLECULAR MECHANISM OF VIOLAXANTHIN DE-EPOXIDATION IN THE XANTHOPHYLL CYCLE: A CASE STUDY OF MARINE DIATOMS

Kuczynska P.[1], Jemiola-Rzeminska M.[1,3], Strzalka W.[1,2], Strzalka K.[1,3]

[1] *Department of Plant Physiology and Biochemistry, Faculty of Biochemistry, Biophysics and Biotechnology, Jagiellonian University, Krakow, Poland; kazimierzstrzalka@gmail.com*
[2] *Department of Plant Biotechnology, Faculty of Biochemistry, Biophysics and Biotechnology, Jagiellonian University, Krakow, Poland*
[3] *Malopolska Centre of Biotechnology, Jagiellonian University, Krakow, Poland*

Xanthophyll cycle is one of the most efficient mechanisms which protects photosynthetic organisms from photooxidation and damage of the photosynthetic apparatus. Six types of xanthophyll cycles were described and all of them rely on the light-dependent transformation of epoxidized xanthophylls to de-epoxidized ones under high light conditions and their conversion to epoxidized forms in low light. The most common is the violaxanthin cycle occurring in higher plants, mosses, lichens and algae. It relies on light-induced violaxanthin de-epoxidation to zeaxanthin via intermediate product which is antheraxanthin and reversion to violaxanthin in low light or darkness. This cycle is catalyzed by two enzymes, violaxanthin de-epoxidase, located in the thylakoid lumen and binding to the membrane at an acidic pH and zeaxanthin epoxidase, located on the stromal side of thylakoids. The violaxanthin cycle was also identified in algae although the diadinoxanthin cycle is their basic photoprotective mechanism. Under high light diadinoxanthin is converted to diatoxanthin and this reaction is catalysed by three isoforms of violaxanthin/diadinoxanthin de-epoxidases. Reverse reaction is catalyzed by three isoforms of zeaxanthin/diatoxanthin epoxidases. Although the diadinoxanthin de-epoxidation rate is four times higher than that of violaxanthin, accumulation of zeaxanthin is observed in strong light conditions.

Due to changing light conditions in terms of light intensity and spectrum in marine habitats where diatoms live, investigations of their photoprotective mechanisms is very interesting. We have chosen *Phaeodactylum tricornutum* for our studies as it is an important model diatom of known genome and great ecological significance. Changes in amount of xanthophylls were analyzed during the exponential phase of growth under optimal (15°C) and higher (20°C) temperatures and also two types of light stress: high light (700 μmol $m^{-2}s^{-1}$ for 6 h a day) which causes an induction of violaxanthin cycle in diatoms and continuous light (1250 μmol $m^{-2}s^{-1}$) which is widely used in studies on photoprotection. Concurrently, we studied differences in relative mRNA transcript levels of six genes engaged in the xanthophyll cycle (*ZEP1, ZEP2, ZEP3, VDE, VDL1, VDL2*). Our results showed that relative xanthophyll contents and genes expression are comparable both at optimal and elevated temperatures, and in both cases the light stress caused significant increase in diadinoxanthin cycle pigments and induction of violaxanthin cycle. We did not observe correlation between diadinoxanthin/diatoxanthin or violaxanthin/antheraxanthin/zeaxanthin pool and expression of any of the xanthophyll cycle genes. It means that activation of the violaxanthin cycle did not cause induction of expression of a particular gene responsible for it. However, we noticed that expression of *ZEP1, ZEP2* and *VDL1* is upregulated in light phase and downregulated in the darkness. *VDL2* is expressed in the darkness. ZEP3 and VDL1 expression does not depend neither on the dark nor the light phase.

Our results show that rate of accumulation of zeaxanthin, in response to strong light stress, is faster than the rate of diadinoxanthin de-epoxidation. However in other studies it has been reported that zeaxanthin is mainly synthesized from β-carotene and it plays an important role in efficient quenching of excited chlorophyll and free radicals. We conclude that the co-existence of two xanthophyll cycles in diatoms may be explained in terms of much faster de-epoxidation of diadinoxanthin to ensure the first photoprotective response, accompanied by enhanced effectiveness provided by Zx under high light stress.

This work was supported by project No. 2013/09/N/NZ1/01031. HPLC analysis was carried out with the equipment purchased thanks to the financial support of the European Regional Development Fund in the framework of the Polish Innovation Economy Operational Program (contract No. POIG.02.01.00-12-167/08, project Malopolska Centre of Biotechnology).

PSEUDO (FACULTATIVE) METALLOPHYTES: A STEP TOWARDS NEW ERA OF PHYTOREMEDIATION

Kumar A., Tripti

Ural Federal University named after the first President of Russia, Ekaterinburg; adarsh.biorem@gmail.com

Several plants (trees, herbs, shrubs, grasses) have been studied from 1970s to introduce the concept of phytoremediation which is the "metal uptake ability of the plants from metal enriched or contaminated soil to clean-up the metalliferous soil". Thousands of plants were screened from metalliferous soil and their physiological and morphological characters were studied. However, a small attention has been paid for the plants which have the ability to survive and reproduce on both uncontaminated and contaminated (metalliferous) soil called as "pseudo or facultative metallophytes". Out of these facultative metallophytes, one of the most demanding metallophytic strategies which is getting keen attention by the scientists and researchers are "facultative hyperaccumulator- plants that hyperaccumulate heavy metal when growing on metalliferous soils, yet also occur commonly on normal, non-metalliferous soil". About 10-15% of hyperaccumulators are facultative. Some of the examples of facultative hyperaccumulator are *Arabidopsis halleri, Allysum serpyllifolium* s.l., *Noccaea goesingense* (= *Thlaspi goesingense*), *Noccaea fenaleri* ssp. *glauca* (= *Thlaspi montanum* var. *montanum*). Over 90% of known hyperaccumulators occur on serpentine (ultramafic) soil and accumulate nickel, yet there have paradoxically been few experimental studies of facultative nickel hyperaccumulation. However, much research is further required to understand the mechanism involved in facultative hyperaccumulation for different metals. The pseudo-metallophytes are providing a new opportunity and scope for ecological and evolutionary research. Difference in the physiological and morphological characteristics of non-metalliferous and metalliferous plants such as stomata size and count, accumulation of proline, anthocyanins, chlorophyll, carotenoids biomass, root and shoot length etc. could help in understanding the adaptive capability of these plants and establishment of new concepts in the field of phytoremediation.

The work was supported by the Ural Federal University (Ekaterinburg, Russia) Competitiveness Enhancement Program.

ADAPTATION OF *CAMELINA SATIVA* (L.) CRANTZ IN DIFFERENT BIOGEOGRAPHIC REGIONS: PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL ASPECTS

Mapelli S.[1], Saikia S.P.[2], Handique N.[2], Borah J[2], Rakhal B.[2], Brambilla I.[1], Galasso I.[1]

[1] *Institute of Agricultural Biology and Biotechnology, CNR, via E. Bassini 15, 20133 Milan, Italy*
mapelli@ibba.cnr.it
[2] *North East Institute of Science and Technology, CSIR, Jorhat – 785 006, Assam, India; spsaikia@gmail.com*

To study and characterize underutilized crops is an important strategy that might improve agricultural biodiversity and produce new products with a low environmental impact. One example is *Camelina sativa* (L.) Crantz (family Brassicaceae) or false flax, an ancient plant, that has been cultivated in temperate climate belt of Europe, as an annual summer or winter crop, for centuries.

Camelina is gaining interest because of its low input requirements and, therefore, it might be used as a low greenhouse-gas-emission biofuel crop. In this last decade several agronomic trials have demonstrated that camelina has several unique agronomic features, including adaptability to marginal soils, short growth cycle and, if compared to rapeseed, a greater resistance to the dehiscence of the siliques.

Several consecutive agronomic trials have been carried out in two north Italian localities and in north-east India (Assam and Manipur). The localities are characterized by a temperate and sub-tropical climate condition in Italy and India, respectively. Several camelina genotypes were used and three genotypes were compared between temperate and sub tropical area. Comparison at agronomical, physiological and biochemical levels have been carried out in both Italian and Indian regions.

Our results have demonstrated that in these climatic areas camelina was able to grow and produce seeds in both countries, but in north-east India only during local winter season (from November to March) when the precipitation are absent, giving a dry condition season, and the temperature is comparable to that of spring-summer temperate European belt, which is the best season period for camelina growing in north Italy.

At morphological level the most evident effect between the localities was on the plant height and number of branches of the camelina genotypes analyzed. Regarding the seed productivity in the two years of trials, the seed yield in India was lower (0.3 ton/ha max) in comparison to the potential yield obtained in Italy (1.0-2.5 ton /ha). Low yield was accompanied by small and light seeds, < 1.0 g/1000 seeds in Manipur, 1.2 g/1000 seeds in Assam in comparison to 1.5-1.8 g/1000 seeds in north Italy. Furthermore the seeds harvested in north-east India showed a lower oil content, about 25%, in comparison to the same genotypes, approximately 35% of oil, grown in Italy. The different percentage in oil, detected in the seeds grown in north-east India, was accompanied by minor differences in fatty acid compositions. The high level of polyunsaturated fatty acids (linolenic and linoleic) characteristic of camelina oils, were always conserved, but oils from sub-tropical climate had higher level of saturated fatty acids (palmitic and stearic acids) in comparison to the seeds harvested in temperate climate. However, the Indian smaller seeds showed a higher content in tocopherols, which gives a greater oxidative stability and shelf life to the seeds. Furthermore, differences in total protein content were also observed.

In conclusion, it is possible to infer that *Camelina sativa* has a high ability to adapt to different climate belts, outside of its original one. Camelina shows to have a high plasticity to climate changes with only minor morphology traits and biochemical characteristics seeds modification.

This study is a part of the agreement of scientific and technological cooperation between Council of Scientific and Industrial Research (CSIR), New Delhi, India and National Research Council (CNR), Rome, Italy.

DIFFERENCES IN METABOLIC STATUS OF TWO LEAF TISSUES

Miszalski Z.[1,4], Kocurek M[2], Nosek M.[3], Kornas A.[3]

[1] *Malopolska Center of Biotechnology, Jagiellonian University, Krakow, Poland; miszalski@excite.com*
[2] *Institute of Biology, Jan Kochanowski University, Kielce, Poland; maciej.kocurek@ujk.edu.pl*
[3] *Institute of Biology, Pedagogical University, Krakow, Poland; anko@up.krakow.pl*
[4] *Institute of Plant Physiology of the Polish Academy of Sciences, Krakow, Poland; miszalski@excite.com*

First land plants had no leaves and performed photosynthesis within organs showing similarity to leaf vascular tissues in present growing C_3, C_4 and CAM (*Crassulacean acid metabolism*) plants. It was also found that in C_3 plants the photosynthetic cells surrounding the vascular system are supplied with either malate or CO_2 from the xylem vessels and they possess high activities of decarboxylating enzymes releasing CO_2 for photosynthesis. CO_2 reduction in these cells leads to elevated internal oxygen concentration and supports the formation of reactive oxygen species (ROS). Ascorbate peroxidase (APX) activity in veinal cells of *Mesembryanthemum crystallinum* L. C_3 and CAM plants differ significantly, in favour of CAM plants. In photosynthetic cells surrounding the vascular tissue of CAM plants, APX could contribute to the mechanisms of ROS overproduction avoidance and to protection against photoinhibition of PSII. We found that photosynthetic cells around the xylem and phloem in C_3 plants show characteristics of CAM photosynthesis. A metabolic shift toward β-carboxylation in those vascular photosynthetic cells in C_3 plants was manifested by the enhanced expression level of NADP-malic enzyme (NADP-ME) gene. NADP-ME also produces NADPH for detoxification of stress-induced reactive oxygen species. In experiments with the effect of necrotrophic pathogen microscopy analysis shown that germinating *hypheae* of *Botrytis cinerea*, though easily penetrates mesophyll tissue is limited in growth in mid-rib and sporadically reached vascular bundles. RubisCO large subunit (*rbcL*) expression in both mesophyll and midrib of leaves of C_3 and CAM plants suggests that both leaf parts perform active photosynthesis. However, the minute transcripts contents for *pepc1* and *nadpme1* genes found in the midribs suggest that they perform *β*-carboxylation at a low rate. Genes for H_2O_2-scavenging enzymes, *cat2* and *apx1*, show lower expression in leaf mid-rib parts than in mesophyll. Processes involved in the regulation of H_2O_2 level in both leaf parts depend on photosynthetic processes and are coordinated but not parallel.

Additional experiments were done on C_3 and CAM performing Clusia plants: *Clusia multiflora* Kunth. described as an obligate C_3 and *Clusia rosea* Jacq. as an obligate CAM plant. Photosynthetic gas exchange, xylem CO_2 concentration, chlorophyll distribution, ^{13}C discrimination, daily malate and citrate fluctuations and the abundance of RubisCO (ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase) and PEPC (phosphoenolpyruvate carboxylase) proteins were measured in leaves and stems. In stems of both species a low CO_2 efflux (in the range of 0.05–0.1 lmol m^{-2} s^{-1}) was observed as a result of extremely low cork conductance for water vapour (0.15–0.2 mmol m^{-2} s^{-1}). This led to the CO_2 concentration in xylem sap reaching 5.2 (CO_2) mmol l^{-1}. Moreover, western blotting analyses proved the presence of RubisCO in the stems of both Clusia species; however, PEPC was only found in *C. rosea*. Additionally, daily fluctuations in the concentration of citrate and malate (higher than in leaves) and significant enrichment in ^{13}C in *C. rosea* stems were observed.

The results will be discussed in relation to the functional differences between mesophyll cells and photosynthetic cells surrounding the leaf vascular system.

This work was supported by the Polish National Science Center (research grant nos. N N304 156440 and 2011/01/B/ NZ9/02540).

EFFECT OF WASHING POWDERED DETERGENTS ON SEED GERMINATION OF *P. VULGARIS* AND *Z. MAYS* L.

Mohamed M.S., Bochkaeva Z.

Department of Biotechnology and Bioinformatics, School of Biological Sciences, College of Natural and Mathematical Sciences, University of Dodoma, Dodoma, Tanzania; mosamo59@yahoo.com, adyanova@gmail.com

Advancement of technologies and good availability of tools in most of the developing countries including Tanzania has led to high production of materials that pollute different water bodies. As drain systems are not developed in the most villages of Tanzania, powdered detergents is among of the most distributed soil pollutant that affects the seeds germination. The aim of our research was to determine the effect of washing powdered detergent on seeds germination of *P. vulgaris* and *Z. mays*. A concentration of 0.5%, 1%, 5% and 10% of a "OMO" powdered detergent, as the most used in Tanzania, including a distilled water as a control of experiment were used to germinate seeds during two weeks.

Results showed that, small concentrations (0.5% and 1%) suppress germination of *P. vulgaris* causing the delay of germination comparing to control, and the maximum of germinated seeds were observed one or two days later respectively than in control. In a case of *Z. mays* 0.5% and 1 % concentrations didn't affect the seeds germination at all. Seeds germinated the same day and the percentage of total germinated seeds was similar as in control. The higher concentrations of 5% and 10% suppressed germination totally on both *P. vulgaris* and *Z. mays*: no seed has germinated. Results show that small concentrations of "Omo" powder detergent (0.5% and 1%) slightly affect the germination of *P. vulgaris* seeds and do not affect germination of *Z. mays* absolutely. And 5% and higher concentrations are mortal for both *P. vulgaris* and *Z. mays*.

The use of "Omo" powdered detergent should be replaced with other friendlier to environment detergent. And drain system must be developed in Tanzania as used detergents are washed out into the soil directly preventing seed germination of grown crops.

AGROBACTERIUM MEDIATED GENETIC TRANSFORMATION OF *POPULUS×BEROLIENSIS* BY AtGA20ox1GENE : FIRST RESULTS

Pavlichenko V.V., Protopopova M.V., Voinikov V.K.

Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, Irkutsk, Russia; vpavlichenko@gmail.com

Due to permanently increasing demand for woodworking industry products, the problem of the rational resort to natural and artificial afforestation is becoming more urgent. Genetic engineering technologies allow the developing of the plants with enhanced growth hormones biosynthesis, which leads to a multiple increasing of growth rate and biomass accumulation. Usages of these plants in wood plantations will allow significantly reducing of the production costs of wood raw. At the same time, the results of different research groups in the field of genetic transformation of plants by the genes of growth hormones biosynthesis are still insufficient and often contradictory.

Thus, the study was addressed to the fundamental problem of genetic engineering of plants - usage of the genetic transformation efficiency for the development of the woody plant forms, which are characterized by increased growth rate and biomass accumulation; and also applied biotechnology problem - necessity in expanding the raw reserve for woodworking industry requirements.

Populus×berolinensis Dippel, the hybrid of laurel-leaf poplar *(Populus laurifolia)* and black poplar *(Populusnigra),* willow family (Salicaceae), was chosen for the genetic transformation for this study. The poplar was considered as the most promising object because the growth hormones of *Populus* species are well-studied, poplars are easy handled by agrobacterial genetic transformation, theirs genomes are not very huge, and several genomes are annotated.

Binary vector for the Agrobacterium mediated transformation was performed on the basis of the commercial pBI121 binary vector containing the general CaMV35S promoter and selective kanamycin resistance gene - *nptII.* As the gene of interest gibberellin 20-oxidase 1 from *Arabidopsis thaliana (AtGA20Ox1)* was used. Genetic transformation of the poplar was carried out by incubation of stem explants in the suspension of *A. tumefaciens* transformed by plasmid vector. As a result of the study the concentration of kanamycin (12 mg/l) for the selection of transgenes on the nutrient mediawas chosen. Transgenic poplar with *AtGA20Ox1* gene was created. Transgenic plants were more resistant to the kanamycin thanthe control individuals, however, inhibition of root formation was found out. The PCR analysis showed the weak positive reaction on *nptII* and *AtGA20Ox1* genes in genomic DNA of obtained transgenes. Genetically modified poplars will be grown up in the greenhouse to estimate effect of *AtGA20Ox1* expression on the growth speed and biomass accumulation. Further analyses such as qPCR and active gibberellins detection will be also applied.

The study was partially financial supported by Presidium of RAS (program № 45.9), Russian Foundation for Basic Research (project № 14-04-31681 mola), Scholarship of President of Russian Federation for young scientists (SP-3823.2015.1), and The Global Energy Non-profit Partnership.

CAN THE LONG-TERM WATER STRESS MEMORY IMPROVE THE DROUGHT TOLERANCE IN POTATO?

Ramírez D.A.[1,2], Rolando J.L.[2], Yactayo W.[2], Monneveux P.[2], Mares V.[2], Quiroz R.[2]

[1] *Water Resources Doctoral Program, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Peru; d.ramirez@cgiar.org*
[2] *International Potato Center (CIP), Apartado 1558, Lima 12, Peru*

Photosynthesis recovery after a previous water stress cycles has been reported in potato, however it has never been tested if this "water stress memory" is kept in a subsequent growing season (long-term water stress memory). Two potato improved varieties (Unica and Sarnav) and one commonly tested European cultivar (Désirée) were compared to test their capacity to endure water restriction driven by water stress memory. Tubers from individuals under well water conditions (non-primed seeds) and water restriction (primed seeds) were sowed and the emerged plants were exposed again to the same irrigation treatments. Tuber yield, leaf greenness, tuber carbon isotope discrimination ( ) and antioxidant activity (AA) in plants from primed and non-primed seeds under both water conditions were compared. The decrease of tuber yield and with water restriction was lower in primed Unica plants. Long-term stress memory consequently appears to be highly genotype-dependent in potato. Its expression in plants originated from primed tubers and facing water restriction seems to be positively associated to the degree of inherent water stress tolerance of the cultivar. However, other effects of priming appear to be genotype-independent as priming enhanced the tuber AA in response to water restriction in the three varieties.

BRASSINOSTEROIDS REGULATE CATION CHANNELS AND TRIGGER CALCIUM-MEDIATED SIGNALS IN HIGHER PLANTS

Straltsova D.[1], Chykun P.[1], Sosan A.[2], Subramaniam S.[2], Tiurkina K.[1], Smolich I.[1], Kolbanov D.[1], Sokolik A.[1], Mackievic V.[1], Zhabinskii V.[3], Demidchik V.[1]

[1] *Belarusian State University, Minsk, Belarus; dzemidchyk@bsu.by*
[2] *University of Essex, Colchester, United Kingdom*
[3] *Institute of Bioorganic Chemistry, NASB, Minsk, Belarus*

Brassinosteroids form an important class of plant hormones with a multitude of functions. They have been intensively investigated for their biosynthesis, distribution and physiological functions. A number of studies have dealt with identification of brassinosteroid receptors in plant cells. Brassinosteroids have been shown to be perceived at the cell surface by BRI1, leucine-rich repeat receptor-like kinases (LRR RLKs). The cytoplasmic domain of BRI1 probably interacts with calmodulin in a Ca^{2+}-dependent manner, suggesting a cross-talk between brassinosteroid and calcium signalling pathways. Moreover, recent data indicate that brassinosteroids can also be sensed by the plasma membrane system catalysing increase in the cytosolic free Ca^{2+} (in leaves of *Arabidopsis thaliana*). The aim of this study was to examine possible effects of brassinosteroids on the plasma membrane cation conductances in plant cells and related Ca^{2+} driven signalling events.

Here, we report the first electrophysiological characterisation of brassinosteroid-activated Ca^{2+}-permeable channels in higher plants. Wheat root protoplasts (tested by patch-clamping) and whole arabidopsis plants expressing Ca^{2+}-reporting protein, aequorin (analysed by chemiluminometry), were used in this study. In the whole-cell patches (wheat root protoplasts), epibrassonolide, homobrassionolide or 24-epicastasterone (10^{-7} – 10^{-4} M) were applied exogenously. Only 24-epicastosterone modified transmembrane cation currents while epibrassonolide and homobrassionolide did not cause any reaction. Addition of 24-epicastosterone at cytosolic side through the patch-clamp pipette led to increase of Ca^{2+} influx conductance, which demonstrated characteristics of depolarisation-activated Ca^{2+} channels. The pharmacological analyses have shown that brassinosteroid-activated Ca^{2+} influx conductance was sensitive to antagonists of nonselective Ca^{2+}-permeable cation channels. Blockers of K^+ channels did not inhibit this conductance.

The plasma membrane conductance, which was activated by an endogenous or exogenous 24-epicastosterone, showed bell-like shape with maximal activation at depolarisation voltages (bath: 20 mM Ca^{2+}). It was not observed at lower extracellular Ca^{2+}. This demonstrates that the observed conductance was mediated by Ca^{2+} entry through cation channels from extracellular space. Labelling 24-epicastosterone with BODIPY (using 24-epicastosterone-BODIPY conjugates which were synthesised chemically) showed that 24-epicastosterone can be transferred to the cytosol both in intact roots and protoplasts. This confirms that the effect of 24-epicastosterone at the cytosolic face can potentially be observed in real plants.

The depolarisation-activated Ca^{2+} channels have rarely been observed in the plasma membrane of higher plants. They are usually masked by large outwardly rectified currents or hyperpolarisation activated currents. The genetics of these channels and their regulation remain unclear. It is known that they are stimulated by microtubule-depolymerizing drugs and inhibited by gadolinium ions. Zhao *et al*. have recently observed that brassinosteroid-induced elevation of cytosolic free Ca^{2+} was significantly lower in the *bri1-5* plants having reduced sensitivity to brassionosteroids. Thus, the brassinosteroid-induced Ca^{2+} signal is probably located downstream of brassinosteroid binding to BRI1 receptor.

Surprisingly, the activation of Ca^{2+}-permeable channels was not observed after application of epibrassonolide and homobrassionolide to wheat root protoplasts. Hypothetically, this can be related to the absence of the biosynthetic path from 24-epicastosterone to epibrassinolide in gramenaceous species.

Here we also tested the brassinosteroid effect on cytosolic free Ca^{2+}, using *Arabidopsis thaliana* plants constitutively expressing aequorin. All three brassionosteroids induced elevation of the cytosolic free Ca^{2+} in arabidopsis root cells with 24-epicastosterone being more potent than epibrassonolide and homobrassionolide. Minimal concentration of 24-epicastosterone, which induced statistically significant changes of cytosolic free Ca^{2+}, was $3*10^{-6}$ M.

In conclusion, the obtained results indicate that the plasma membrane of root cells contains brassinosteroid-activated Ca^{2+}-permeable cation channels, which are involved in the generation of cytosolic Ca^{2+} signal.

GLOCAL PLANTS OF ENVIRONMENTAL SIGNIFICANCE

Varaprasad M.N.

Department of Plant Physiology and Biochemistry, Ural Federal University named after First President of Russia B.N. Yeltsin, Ekaterinburg, Russia
Department of Plant Sciences, University of Hyderabad, Hyderabad 500 046, Telangana, India

Plants often experience abiotic stress like exposure to heavy metals, drought, salinity, alkalinity, temperature, UV-radiations, oxygen deficiency etc. Abiotic stress is responsible for reduced yield of some major crops. Ion imbalance and osmotic stress is the primary effect of abiotic stress. Plants respond the abiotic stress by up and down regulation of genes responsible for the synthesis of osmolytes, osmoprotectants and antioxidants. Stress responsive genes and gene products including proteins confer tolerance to the plant. Therefore, the subject of physiological, biochemical and molecular mechanisms for abiotic stress, perception, transduction and tolerance is a challenging field.

In this presentation Glocal plants (=Global and local) of environmental significance will be discussed. Environmental remediation is about three decades old and today the advances in this field are capable of handling a variety of toxic waste. Mining had negative effects on natural resources (biotic and abiotic) and deteriorate the quality of environment. The significance of environmental crops viz. *Brassica* sp., *Helianthus annus*, *Oryza sativa*, *Pinus* sp., *Ceratophyllum*, *Elodea* and grasses are dealt for their environmental remediation significance.

EFFECT OF ENVIRONMENTAL FACTORS ON SEEDLING GROWTH AND ANTHOCYANIN CONTENT IN LEAVES OF *BETULA* 'ROYAL FROST'

Yang L.

State Key Laboratory of Forest Genetics and Breeding, School of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China; yangl-cf@nefu.edu.cn

Betula 'Royal Frost' is a new species from the hybridized of *B. pendula* and *B. platyphylla* var. *japonica* through a long time selectively according to the color of leaves characteristic. We researched the influence of environmental factors on the seedlings growth and the color of leaves by measuring the parameter of seedlings growth and the anthocyanin content of leaves of seedlings grown in different environment,in order to provide the theoretical foundation for the formation of the technologies which are good for the introduction and plantation of colored-leaves trees and maintain their good features.

Our research objects were annual seedlings of *Betula* 'Royal Frost' which separately grow in greenhouse and outside. We should observe and record the natural rules of growth and anthocyanin biosynthesis in one year when the seedlings grow outside, and the growth and anthocyanin biosynthesis of seedlings which grow in different light intensity, temperature, soil moisture, pH and so on. Investigating the natural rules of growth and anthocyanin biosynthesis and the influence of different environmental factors on seedlings growth and anthocyanin biosynthesis.

The annual height growth and basal diameter growth of *Betula* 'Royal Frost' seedlings showed such a regulation like "S" curve. The light intensity and moisture in their habitat had no significant influence on the height growth and radial growth of *Betula* 'Royal Frost' seedlings, while the temperature had significant influence on the height growth but the influence of temperature on the radial growth was not significant. The anthocyanin content of the seedlings which growed outside showed a highly significant positive correlation with the variation of light intensity and the atmospheric moisture, and showed a highly significant negative correlation with the temperature between Jun and Sept. The results of experiments indoor showed as followed: The anthocyanin content of leaves was higher when the value of irrigated water is seven or eight, while the pH of irrigated water was five, the anthocyanin content was lowest. The difference among different treatments were high significant(p<0.01). The anthocyanin content reached the peak When the light intensity was 200 μmol·m^{-2}s^{-1} and the anthocyanin content would decrease as the increase of light intensity when light intensity over 200 μmol·m^{-2}s^{-1}. When the temperature was 20°C,the anthocyanin content was highest and showed high significantly difference with other treatments(p<0.01). The anthocyanin content was highest when spraying potassium sulphate to the surface of leaves while the anthocyanin content was lowest when spraying potassium hydrogen phosphate, and the differences among different treatments were high significant(p<0.01). The anthocyanin content increased with the increase of soil moisture and reached the maximum when the soil moisture was 90%. The anthocyanin content showed high significantly difference in different treatments(p<0.01).

If the value of pH of irrigated water is neutral or alkalescent, the water will be good for the synthesis of anthocyanin, but if the water is weakly acidic that the water will execute the inhibiting function. The *Betula* 'Royal Frost' seedlings grown under 200 μmol·m^{-2}s^{-1} of the light intensity, 20°C and the soil moisture content between 60% and 90% will be able to maintain the feature of purple leaves, at the same time, spraying sulfur and potassium to the surface of their leaves could make a promotion to anthocyanin synthesis, while phosphorus would restrain this process.

This research is supported by Postdoctoral Science Start Foundation of Heilongjiang Province of China (LBH-Q14003) and Natural Science Foundation of Heilongjiang Province of China (C201407).

АУТОФАГИЯ КАК СТРАТЕГИЯ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ ПРИ СТРЕССЕ

Autophagy as a strategy of plant defence under stress

Минибаева Ф.В., Рябовол В.В., Дмитриева С.А., Пономарева А.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук, Казань, Республика Татарстан, Россия
minibayeva@kibb.knc.ru

Аутофагия – катаболический процесс, вовлеченный в развитие растений, стрессовые реакции, старение и программируемую гибель клеток. Это строго регулируемое удаление внутриклеточных структур является компонентом универсального стрессового ответа эукариотических клеток, мишенями которого являются поврежденные или токсичные компоненты с целью последующей вакуолярной деградации. Растения используют этот механизм для выживания при окислительном стрессе и других видах стресса, сопровождающихся усиленным образованием активных форм кислорода (АФК). В отличие от редокс-сигналов, которые являются кратковременными и не вызывают повреждений в клетках, накопление АФК и необратимые окислительные модификации макромолекул могут привести к разрушительным последствиям, в том числе потере клеточных функций и жизнеспособности. В связи с этим, своевременное изолирование и регулируемое удаление окисленных макромолекул и поврежденных клеточных структур, осуществляемое в ходе аутофагии, является жизненно важным. Несмотря на успехи в изучении аутофагии в дрожжах и млекопитающих, молекулярные механизмы аутофагии в растениях недостаточно изучены. Настоящая работа посвящена анализу аутофагических процессов в растениях при различных видах абиотического стресса на тканевом, клеточном, белковом и генном уровнях.

В корнях пшеницы (*Triticum aestivum* L.) окислительный стресс, вызванный экзогенным воздействием прооксидантов (паракват, салициловая кислота) или ингибиторами митохондриальной электронтранспортной цепи (ротенон, антимицин, салицилгидроксамовая кислота), индуцировал неселективную аутофагию и митофагию, процесс, селективно удаляющий митохондрии. Эти данные свидетельствуют о том, что органеллы и другие клеточные структуры, вовлеченные в образование АФК и сигнализацию, могут быть первичными мишенями аутофагии. Активация аутофагии была показана и при раневом стрессе в корнях пшеницы. Анализ временно́й динамики раневого стресса в течение 24 часов выявил двухфазный характер накопления АФК, сопровождающийся повышением активности пероксидаз и образованием аутофагосом. Поздняя фаза раневого стресса характеризовалась массивным образованием АФК внутри клетки, накоплением аутофагосом и гибелью большого количества клеток.

Аутофагические процессы контролируются многочисленными аутофагическими белками и генами. Многофункциональный белок ATG8 из семейства убиквитиновых белков используется в качестве молекулярного маркера макроаутофагии. Нами было обнаружено, что структура *Ta*ATG8g содержит W- и L-сайты, которые необходимы для взаимодействия ATG8 с различными лигандами, в том числе с ATG4. Белок ATG4, цистеиновая протеаза, является единственным редокс-чувствительным аутофагическим белком. *Ta*ATG4 взаимодействует с *Ta*ATG8g посредством так называемого AIM-мотива (ATG8-interacting motif). С помощью сервера MEME Suit в аминокислотных последовательностях белков *Ta*ATG4a-b мы обнаружили мотив WQIL – потенциальный AIM-мотив связывания с белком *Ta*ATG8g. Модификация ATG8 с помощью ATG4-опосредованного разрезания на С-конце необходима для формирования аутофагосомальной мембраны и зависит от редокс-статуса клетки. Анализ активности генов *TaATG4* and *TaATG8* с помощью ПЦР в реальном времени показал повышение уровня экспрессии этих генов при окислительном, раневом стрессе и нарушении мембранной целостности плазмалеммы. Редокс-регуляция активности ключевых аутофагических белков предполагает начилие сигнального пути, в котором АФК функционируют как сигнальные молекулы, контролирующие аутофагию.

Наши данные продемонстрировали индукцию аутофагии в растениях при абиотическом стрессе и позволили выявить двойственную роль аутофагии при стрессе. На начальном этапе стресса аутофагия, вероятно, является составной частью стрессового ответа и обеспечивает защитный механизм для обезвреживания и деградации окисленных макромолекул и поврежденных органелл. В условиях длительного стресса накопление АФК и окисленных структур, недостаток питательных элементов, энергетический дефицит приводят к избыточному накоплению повреждений, что сопровождается масштабной аутофагической деградацией и, в результате, гибелью клеток. Таким образом, аутофагия находится на перекрестке между выживанием и гибелью клеток, и в зависимости от степени повреждения клеток и физиологического состояния организма она является либо защитным механизмом, либо способом гибели клеток.

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

А

Абдрахимов Ф.А. 55
Абдулжанова М.А. 247
Абдуллаев А. 458
Абдуллаев Х.А. 19
Абилова Г.А. 20
Абрамочкин Д.В. 81
Абузгалина Р.И. 553
Авальбаев А.М. 21, 31, 32, 609
Аверчева О.В. 22, 371
Авксентьева О.А. 23, 32
Агеева М.В. 144, 211, 266, 573
Агеева М.Н. 25, 65
Агеева П.А. 161
Азарин К.В. 335
Азаркович М.И. 26
Акимова Г.П. 500
Акинчиц Е.К. 27
Аксенов А.И. 572
Актуганов Г.Э. 292
Акулов А.Н. 456, 457
Алейникова А.Ю. 18
Александрова М.С. 47
Алексеева В.В. 187
Алиева Г.П. 46, 474
Алиева Зар.М. 29, 557
Алиева Зем.М. 30
Аллагулова Ч.Р. 31, 32
Аллахвердиев С.И. 108, 594
Амброс Е.В. 33
Амелин А.В. 34
Андреев В.П. 35
Андреев И.М. 36, 262, 599
Андреева И.Н. 39
Андронова Е.В. 91
Андросова В.И. 37, 524
Аникина Л.М. 412
Анисимов А.А. 38
Анисимов А.В. 39
Анищенко О.В. 531
Анохина Н.Л. 582
Антипина О.В. 40, 432
Антонова Г.Ф. 41
Артемкина Н.А. 42
Артемьева А.М. 43, 274
Архипов Д.В. 369
Архипов М.В. 44
Архипова Т.Н. 101, 292

Астафурова Т.П. 45
Астахова Н.В. 46,163, 474
Астраханцева Н.В. 47
Атабекова А.К. 304
Атоев М.Х. 607
Афанасьева Л.В. 48
Ахатова А.Р. 618
Ахиярова Г.Р. 49, 275, 525
Ахтямова Г.А. 55, 558

Б

Бабак О.Г. 50, 598
Бабаков А.В. 119
Бадичан Д. 52
Баик А.С. 51
Баймиев Ал.Х. 100, 579
Баймиев Ан.Х. 579
Балаур Н.С. 52, 115
Балекин А.Ю. 118
Балмуш Г.Т. 459
Балнокин Ю.В. 323, 371, 408
Банаев Е.В. 192
Банкин М.П. 131
Баранова Г.Б. 53, 74
Баранова Е.Н. 53, 54, 74, 159
Баранчиков Ю.Н. 47
Бассарская Е.М. 22
Баташева С.Н. 55, 558
Батова Ю.В. 56, 236, 306, 447
Батулев А.В. 620, 623,
Бахтенко Е.Ю. 84, 204, 497
Бачин Д.В. 57
Башмаков Д.И. 58
Баштовая С.И. 560,561
Баяндина И.И. 59
Бедбенов В.С. 108
Безрукова М.В. 60
Бекузарова С.А. 61
Белова Л.П. 483
Белоголова Г.А. 500
Белоус О.Г. 62, 63, 64
Белый П.Н. 239
Беляев Д.В. 342, 371, 424

Беляева А.И. 174
Беляева Е.А. 65
Бендер О.Г. 66, 350
Бердичевец И.Н. 50, 539, 598
Бердникова О.С. 67
Бердыев Д. 384
Березина Е.В. 68
Беркович Ю.А. 271
Бернер Т. 28
Бибикова Т.Н. 129
Биль К.Я. 556
Билова Т.Е. 518
Бинюков В.И. 348
Битаришвили С.В. 69
Битюцкий Н.П. 70
Благова Д.К. 100
Блуфард А.С. 71
Бобков С.В. 72
Богатырев В.А. 289
Богданова Е.С. 73, 376, 449, 515
Богоутдинова Л.Р. 74
Боднар О.И. 105
Бойко Е.В. 75, 134, 135, 136
Бойкова Н.В. 181
Болдырев В.А. 76
Болондинский В.К. 77
Большакова Л.С. 490
Бондаренко О.Ю. 585
Борисова Г.Г. 254, 329, 428
Борисова-Мубаракшина М.М. 78
Боровик О.А. 79, 148, 277
Боровская А.Д. 601
Боровский Г.Б. 269, 276, 543
Борцова С.А. 187
Брагина О.А. 491
Браилко А.В. 80, 155
Брановицкая Т.Ю. 577
Братанова М.А. 237
Брейгина М.А. 81, 327
Брилкина А.А. 25, 65, 68
Буболо Л.С. 82, 333
Бубякина В.В. 95, 103, 424, 522
Бугакова И.С. 612
Бударин С.Н. 83, 270
Буй Н.Х. 444
Буланова И.А. 613
Булатова С.В. 84
Булычев А.А. 268
Булышева М.М. 85
Бураханова Е.А. 46, 163
Бургутин А.Б. 118
Буренина А.А. 45
Бурковская Е.В. 87, 88
Бурлакова Е.Б. 194
Бурмистрова Н.А. 86
Бурундукова О.Л. 87, 88
Бурханова Г.Ф. 89, 503
Бурыгин Г.Л. 90, 181, 289
Бутузова О.Г. 91
Бухарина И.Л. 92
Буцанец П.А. 599, 600
Буценко Е.С. 350
Бушуева А.В. 106
Быковская И.А. 409
Быстрова Е.И. 197

В

Валиулина А.Ф. 121, 133
Вартапетян Б.Б. 93, 94
Васильев С.В. 112
Васильева Г.Г. 324
Васильева И.В. 95, 103, 429, 522
Васильева О.Г. 357
Васильева С.В. 424
Васильченко М.С. 23
Вафина Г.Х. 216
Вахитов В.А. 326
Великанов Г.А. 483
Величко В.В. 96, 400, 530
Венжик Ю.В. 97, 98, 533
Вепринцев В.Н. 205, 206
Вержук В.Г. 99
Вершинина З.Р. 100
Веселов А.П. 25, 65, 68, 481
Веселов Д.С. 49, 582
Веселов С.Ю. 275, 525
Веселова С.В. 89, 101, 102, 394, 582
Ветошкина Д.В. 78
Ветчинкина Е.М. 119
Ветчинникова Л.В. 11, 95, 103, 480
Видершпан А.Н. 134
Видхолм Дж.М. 247
Виноградов Н.С. 104
Винярская Г.Б. 105
Виссенберг К. 426
Вишняков А.Н. 150
Владимиров В.П. 362

Власов П.В. 443
Власова И.И. 273
Власова Н.С. 325, 441
Воденеев В.А. 27, 106
Войников В.К. 146, 193, 269, 277, 543
Войцеховская О.В. 107, 113, 164, 180, 541
Волкова Л.А. 118
Волкова П.Ю. 69
Волотовский И.Д. 230
Волошин В.Д. 108
Волошина Т.В. 109
Волынец А.П. 110
Воробьев В.В. 380
Воробьев В.Н. 228
Воробьев Н.В. 491
Воронин П.Ю. 111, 112, 322
Воронина Е.А. 113
Воронков А.С. 200, 262, 323
Воронкова М.С. 192
Воронкова Т.В. 583
Воронова О.Н. 114
Воронцов В.А. 52, 115
Ву В.З. 116, 299, 410
Высоцкая Л.Б. 117, 290, 292, 534
Высоцкая О.Н. 118, 501
Высоцкий Д.А. 119

Г

Габбасова И.М. 292
Гагаринский Е.Л. 120, 244
Гаевский Н.А. 121
Галашева А.М. 138
Галибина Н.А. 122, 365, 378, 520
Галимзянова Н.Ф. 292
Гамалей Ю.В. 123, 587
Ганизода В. 469
Ганчева М.С. 124, 166
Гаранина Ю.Д. 68
Гармаш Е.В. 203
Гасимова Г.А. 160
Гатауллина М.О. 552
Гвоздева Е.С. 170
Генерозова И.П. 125, 126, 348
Герасименко И.М. 147, 485, 539
Гераськин С.А. 69
Гетман И.А. 462
Гетте И.Г. 127
Гигиняк Ю.Г. 239
Гизбрехт С.В. 349, 350
Гильванова Е.А. 292
Гильманова Р.И. 21, 609
Гисматуллина Л.Г. 88
Гиясидинов Б.Б. 19
Глаголева Е.С. 128, 129
Гладков Е.А. 312
Глинская Е.В. 130
Глухова Л.Б. 241
Гобова А.Е. 131
Говорова Г.Ф. 613
Гоголев Ю.В. 132, 143, 144, 145, 154, 532
Гоголева Н.Е. 144
Голденкова-Павлова И.В. 147, 465, 539, 540
Голованова Т.И. 133
Головатская И.Ф. 75, 134, 135, 136, 170
Головко Т.К. 137, 203, 340, 504, 505, 514
Голубев А.А. 289
Голубков В.В. 239
Голышкин Л.В. 138, 321
Голышкина Л.В. 138
Гончарова Э.А. 139, 140
Гончарук Е.А. 141, 233
Горбаченко О.Ф. 335
Горбунов А.В. 142
Горелова С.В. 142
Горина С.С. 143, 495, 532
Горчакова Ю.А. 141
Горшков А.П. 257
Горшков В.Ю. 144, 145, 154
Горшков О.В. 145, 266, 356
Горшкова Д.С. 22
Горшкова Т.А. 145, 146, 211, 266, 309, 356, 421, 536, 573
Гра О.А. 147, 539
Грабельных О.И. 79, 148, 277, 305
Граскова И.А. 193, 450
Гречкин А.Н. 71, 132, 143, 532, 549
Грибовская И.В. 400
Григоращенко Я.А. 149, 595
Григорьев Ю.С. 150
Григорьева Ю.В. 442
Грицак Л.Р. 151
Грищенко Е.Р. 239
Грошева Е.А. 581

Грубинко В.В. 105, 152
Грушевская М.С. 153
Губаев Р.Ф. 144, 154
Губанова Т.Б. 155
Гулевич А.А. 54
Гуляева Е.Н. 156, 361
Гумерова Е.А. 279, 456, 457
Гусев А.А. 201

Д

Давидовская Е.Н. 70
Давлетшина Л.Н. 157
Давлятова Д.М. 384
Давыдова Н.С. 150
Дальке И.В. 137, 158, 203
Даминова А.Г. 144, 154
Даминова А.И. 416
Данилова М.Н. 172, 291
Данилова С.А. 159
Данилова С.В. 54
Даутова Н.Р. 39
Дегтярева И.А. 160
Дейнеко Е.В. 367, 485
Дейхолос М.К. 356
Демиденко Н.В. 457
Демидчик В.В. 426, 620, 621, 622, 623, 624,
Демина О.С. 161
Демченко К.Н. 162, 252, 256, 257
Деревягина М.К. 424
Дерябин А.Н. 163
Дехеш К. 464
Джанмирзаева М.М. 20
Джумаев Б.Б. 607
Диловарова Т.А. 496
Дмитриев А.П. 619
Дмитриева В.А. 164, 541
Дмитриева С.А. 641
Днепровский И.А. 165
Добрякова К.С. 113
Додуева И.Е. 124, 166
Долгих Ю.И. 94, 167, 501
Домаш В.И. 168
Домашевская И.Г. 349
Донская И.И. 623
Донская М.В. 169
Дорофеев В.Ю. 170, 171
Дорофеев Н.В. 277
Дорошенко А.С. 172, 291
Дремук И.А. 173
Дробык Н.М. 151, 199, 363
Дроздов С.Н. 563
Дроздова И.В. 174
Дромашко С.Е. 175
Дронов С.М. 620
Дубровина А.С. 401
Дубровская Е.В. 366
Дубцова А.А. 176
Дударева Л.В. 177, 193, 324, 389, 390, 391, 392, 393, 459
Дульцева Г.Г. 178, 202
Дымова О.В. 158, 179, 203, 504, 505

Е

Евкайкина А.И. 113, 180
Евсеева Н.В. 90, 181
Евстюгин А.С. 182
Евтюгин В.Г. 456
Егорова А.В. 183
Егорова А.М. 521
Егорова Н.А. 611
Емельянов В.В. 184, 310, 437, 570
Еникеев А.Г. 395
Епринцев А.Т. 185, 475, 550, 551, 552
Еремин В.М. 273
Ермаков И.П. 81, 327
Ермилова В.С. 532
Ермилова Е.В. 308
Ермолаева О.В. 186
Ермошин А.А. 187
Ермошин А.Н. 584
Ерохин А.Н. 271
Ершова А.Н. 67, 188, 189
Ершова Е.В. 608
Есенбаева Г.Л. 247
Ефимов С.В. 574
Ефимова М.В. 190, 191
Ефремова Л.Н. 119

Ж

Жабинский В.Н. 620, 623
Жармухамедов С.И. 108
Жармухамедов С.К. 594
Железниченко Т.В. 175
Жернаков А.И. 294
Жесткова И.М. 423
Живетьев М.А. 193, 450
Жигалова Т.В. 22, 371
Жигачева И.В. 194, 348
Жмурко В.В. 195

Жужжалова Т.П. 205
Жуйкова Е.В. 196
Жуков А.В. 484
Жуков В.А. 294
Жуковская Н.В. 197
Жупанов И.В. 198
Журавлев Ю.Н. 87
Журикова Е.М. 224, 445

З

Забанова Н.С. 148
Забрейко С.А. 168
Забродин Д.А. 291
Загоскина Н.В. 233, 377, 381
Загричук О.М. 199
Заикин В.В. 34
Зайнуллина Л.Ф. 547
Запевалова Д.С. 156, 380
Запрудская Е.В. 358
Зартдинова Р.Ф. 36
Захарова Е.В. 200, 262
Захарова О.В. 201
Захарова Т.В. 202
Захожий И.Г. 73, 137, 203, 449, 514, 515
Звонарев С.Н. 622, 624,
Зейслер Н.А. 204
Землянухина О.А. 205, 206
Зернова О.В. 247
Зинатуллина А.Е. 287
Злобин И.Е. 207
Злотников А.К. 208
Зорина А.А. 209
Зотиков В.И. 510
Зотикова А.П. 45, 66, 284
Зубарева О.Н. 210, 506
Зубей Е.С. 398
Зубкова Е.К. 333, 341
Зубо Я.О. 28

И

Ибрагимов Р.И. 618
Ибрагимова Н.Н. 211, 266
Иваницкая А.С. 535
Иваницкий А.Е. 350
Иваницких А.С. 212
Иванов А.А. 213
Иванов Б.Н. 78, 224, 445
Иванов В.Б. 197, 214
Иванов В.В. 210
Иванов И.И. 290
Иванов Л.А. 87, 215, 21 608
Иванов О.А. 168
Иванов Р.С. 216
Иванова А.Н. 180, 541
Иванова Г.А. 506
Иванова Е.П. 217
Иванова К.А. 218, 257
Иванова Л.А. 87, 215, 21 346, 608
Иванова М.В. 220, 270
Иванова Н.А. 221, 222
Иванова Э.А. 216
Игнатенко Р.В. 223
Игнатова Л.К. 224, 455
Измайлов С.Ф. 36
Икконен Е.Н. 225, 226, 592
Ильина Е.Л. 162, 252
Ильинова М.К. 103, 480, 604
Ильчуков В.В. 227
Ионенко И.Ф. 228, 229, 483
Исламов Б.Р. 144
Истомина Е.А. 493

К

Кабардаева К.В. 540
Кабачевская Е.М. 230
Кагина Н.А. 231
Кадушников Р.М. 346
Казакевич А.В. 358, 398
Казакевич А.В. 398
Казакова А.С. 232
Казакова Т.С. 239
Казанцева В.В. 233
Казахмедов Р.Э. 234, 235
Казнина Н.М. 56, 236, 306
Кайбияйнен Э.Л. 524
Калаев В.Н. 206
Калацкая Ж.Н. 237
Калачева Н.В. 246
Калашникова Е.А. 248
Калашникова И.В. 215
Калимова И.Б. 174
Калугина О.В. 355
Каляга Т.Г. 623
Каменек Л.К. 338
Каменцева И.Е. 82, 255
Камова А.И. 280
Канаш Е.В. 238, 412
Канделинская О.Л. 239
Карабутова Л.А. 551

Караваева А.В. 253
Карасев В.Н. 240
Карасева М.А. 240
Каримова Ф.Г. 21, 609
Карначук О.В. 241
Карначук Р.А. 170, 171, 241
Карнюшина Т.Е. 452
Карпец Ю.В. 242
Карпеченко И.Ю. 206
Карпеченко Н.А. 206
Карташов А.В. 207, 417
Касаткин М.Ю. 243, 244
Касимова Р.И. 618
Каспарова И.С. 245
Катичева Л.А. 27, 106
Кашулин П.А. 246
Кершанская О.И. 247
Кильчевский А.В. 50, 598
Кимиссе М. 540
Киракосян Р.Н. 248
Кирдей Т.А. 249
Киризий Д.А. 250
Кириллов А.Ф. 560, 561
Кириллова И.Г. 251
Кириллова Л.Л. 217
Кириллова Э.И. 560, 561
Кирисюк Ю.В. 621, 624
Кириченко К.А. 193, 305
Кирпа-Несмиян Т.Н. 147
Кирюшкин А.С. 162, 252
Киселев К.В. 87, 401
Киселева Г.К. 253, 373
Киселева И.С. 187, 196, 580
Кислицина М.Н. 254
Кислюк И.М. 82, 255
Кистол М. 560
Китаева А.Б. 256, 257
Китаева Т.Ю. 258
Клаус А.А. 259, 318
Клемешова К.В. 62
Клименко Е.Н. 260
Клименко Е.С. 81
Климов В.В. 594, 617
Клушевская Е.С. 261
Князев А.В. 434
Ковалев В.С. 491
Ковалева Л.В. 200, 262
Ковалевич А.А. 335
Коваль Е.В. 263
Кожевникова А.Д. 264
Кожевникова А.М. 63
Кожух Т.В. 237
Козак Н.В. 265
Козлова Л.В. 266
Козулева М.А. 78
Козьмик Р.А. 560, 561
Колбанов Д.В. 623
Колбек И. 621
Колесникова Е.В. 267
Колмыкова Т.С. 542
Колоколова Н.С. 544
Коломейченко В.В. 563
Коломийцева Г.Я. 496
Колупаев Ю.Е. 242, 619
Комарова А.В. 268
Комахин Р.А. 119
Комиссаров Г.Г. 454
Конвалюк И.И. 363
Кондакова М.А. 269, 543
Кондратьев М.Н. 83, 161, 270
Кондратьева В.В. 583
Коновалова И.О. 271
Коновалова Л.Н. 357
Кононов А.В. 328
Константинова С.В. 559
Копанина А.В. 272, 273
Копытина Т.В. 395
Корнилова Ю.В. 481
Корнишина В.А. 477
Корнюхин Д.Л. 274
Коробова А.В. 275
Королева Н.А. 79, 148
Коростылева Т.В. 493
Коротаева Н.Е. 276
Корсукова А.В. 277
Корчагина Л.Е. 221
Коршунова С.Н. 338
Корытько Л.А. 334, 345, 601
Кособрюхов А.А. 213, 278, 319, 337, 449, 502
Костюкова Ю.А. 279, 456, 457
Косульников В.В. 346
Котеева Н.К. 85, 351
Котельникова И.М. 372
Котова З.П. 280
Кохтырева Г.Н. 231
Коцупий О.В. 33
Кочерина Н.В. 43
Кочетова Т.В. 22
Кочкин Д.В. 128, 281, 559
Кошкин В.А. 282
Кошкин Е.И. 283
Кравец А.В. 284
Красавина М.С. 86

Краснобаева С.Ю. 285
Красова Н.Г. 138
Креславский В.Д. 108, 286, 319
Кривов С.А. 305
Кривоногих Л.Ю. 407
Крикунова Н.И. 194
Круглова Н.Н. 287
Крыжко А.В. 288
Крылова В.В. 36
Крючкова Е.В. 289
Ктиторова И.Н. 412
Куделина Т.Н. 398
Кудоярова Г.Р. 49, 117, 275, 290, 292, 525, 534
Кудрявцева Д.С. 575
Кудрякова Н.В. 172, 291
Кудряшов С.В. 349
Кузакова О.В. 315
Кузнецов В.В. 28, 291, 318
Кузнецов Вл.В. 112, 190, 191, 417
Кузнецов Д.В. 201
Кузнецова А.П. 589, 616
Кузнецова Л.Н. 288
Кузнецова Н.Ф. 261
Кузьмина Л.Ю. 292
Кузьмина Н.М. 293
Кукушкин С.Ю. 406
Кулаева О.А. 294
Куликова А.Л. 295
Кулуев Б.Р. 503
Кумахова Т.Х. 296
Куприянова Е.В. 297
Курамшина З.М. 298
Куренина Л.В. 54
Курносова Т.Л. 409
Куртикова А.Л. 191
Кусакин П.Г. 257, 568
Кучаева Л.Н. 116, 299, 410
Кучер Е.Н. 300, 577
Кушунина М.А. 301

Л

Лабунская Е.А. 129
Лабутина М.В. 302
Лавина А.М. 100
Лаврова В.В. 301
Лазарева Е.А. 304
Лазукин А.В. 305
Лайдинен Г.Ф. 56, 236, 306
Лайков А.В. 456, 457
Ламан Н.А. 237
Ланцев В.Л. 307
Лапина Т.В. 308
Лаптева Т.А. 423
Ларикова Ю.С. 83, 270
Ларская И.А. 309
Ларская И.А. 536
Ласточкин В.В. 184, 310
Лауве Л.С. 87
Лебедев В.Г. 311, 548
Лебедева М.А. 166, 473, 523
Лебедева М.Д. 279
Легерова Е.О. 623
Лешукова Л.А. 196
Лизунова И.Е. 83
Литвинова И.И. 312
Литвиновская Р.П. 191
Литвинчук А.Ю. 121
Литягина С.В. 313
Лобанов А.В. 454
Лобачев Ю.В. 181
Ловягина Е.Р. 314
Логачева М.Д. 457
Логачева М.Н. 456
Лозовая В.В. 247
Ломин С.Н. 12, 369
Ломоватская Л.А. 315, 324
Лось Д.А. 13, 57, 352
Лотова Ю.Д. 129
Лоусон Т. 621
Луговая А.А. 619
Лукаткин А.А. 316, 317
Лукаткин А.С. 316, 317, 354, 477, 542, 569
Лунькова Н.Ф. 86
Лутова Л.А. 124, 166, 473, 523
Лысенко Е.А. 259, 318
Любимов В.Ю. 319
Любушкина И.В. 148, 193, 305, 320
Ляпунов С.М. 142
Ляхова А.С. 321
Лященко М.С. 552

М

Маевская С.Н. 322
Майорова О.В. 151, 323, 408
Макаров И.О. 25
Макарова Л.Е. 324
Макеева И.Ю. 325, 441
Максимов А.П. 328

Максимов Г.В. 542
Максимов И.В. 89, 101, 102, 326, 394, 503, 618
Максимов Н.М. 327
Максимов Т.Х. 328
Максимова Л.А. 395
Малева М.Г. 329
Малина Р.Б. 330
Малофий М.К. 190
Малышев Р.В. 137, 203
Мамаев А.В. 590
Мамаева А.С. 331, 555
Мамедова К.К. 332
Мамушина Н.С. 333, 341
Манжелесова Н.Е. 334, 601
Маракаев О.А. 562
Маркелова А.Г. 487
Маркин Н.В. 335
Марковская Е.Ф. 37, 156, 278, 36, 388, 502, 524, 597
Мартиросян Ю.Ц. 337, 496
Мартыненко Г.Е. 510
Мартьянова Д.И. 338
Марченко Т.А. 239
Масленникова Д.Р. 31, 32, 339
Маслова С.П. 340
Маслова Т.Г. 341
Маталин Д.А. 342, 422
Матвеева Е.М. 303
Матвеенко И.И. 282
Матора Л.Ю. 90, 181
Маханьков В.В. 87
Мацкевич В.С. 622, 624
Мащенко Н.Е. 459, 601
Медведев С.С. 131, 343, 426
Медведева Ю.В. 170,171
Мейчик Н.Р. 301, 344
Мелентьев А.И. 292
Мелешин А.А. 424
Мельник В.Н. 363
Мельникова Е.В. 334, 345, 601
Меренюк Л.Ф. 52, 115
Мертвищева М.Е. 265
Мигалина С.В. 346
Мизгулин В.В. 346
Микшина П.В. 144, 347, 421
Миль Е.М. 348
Миляева Э.Л. 94
Минаева Е.С. 308
Минибаева Ф.В. 641
Минич А.С. 349, 350
Минич И.Б. 349, 350
Минкина Ю.В. 262
Миракилов Х.М. 19
Миргородская О.Е. 85, 351
Миронов К.С. 51, 331, 352
Мирошниченко Н.Н. 353
Мисюкевич А.Ю. 230
Митина Т.Ф. 561
Митрофанова И.В. 80
Митрофанова О.В. 80
Михайлов А.Л. 370, 526, 558
Михайлов С.Н. 462
Михайлова И.Д. 354
Михайлова С.И. 45
Михайлова Т.А. 355
Михайлова Ю.В. 570
Михальчук Я.П. 415
Михеева Ю.А. 530
Мишарина Т.А. 194
Мокшин Е.В. 569
Мокшина Н.Е. 145, 266, 356
Молканова О.И. 357
Молчан О.В. 237, 358
Молчанов А.Г. 359
Мороз Д.С. 360
Морозов С.Ю. 304
Морозова И.В. 103
Морозова К.В. 156, 361
Мостякова А.А. 362
Мосула М.З. 363
Моторная О.Ю. 491
Мотылева С.М. 265, 364
Мошков И.Е. 46, 385, 474
Мощенская Ю.Л. 365
Мудрилов М.А. 27
Музарок Т.И. 87
Муратова А.Ю. 366
Мурсалимов С.Р. 367
Мустафаев О. 465, 540
Мухина Л.Н. 47
Мухитова Ф.К. 71, 549
Мухтарова Л.Ш. 143, 532
Мысягин С.А. 106
Мягких Е.Ф. 368
Мякушина Ю.А. 369
Мямин В.Е. 239
Мясоедов Н.А. 323, 371, 408

Н

Набеева Р.А. 553
Назаренко Л.В. 141

Назарова Г.Н. 217, 556
Невмержицкая Ю.Ю. 370, 526, 581
Недведь Е.Л. 427
Неделяева О.И. 371
Некрасов Э.В. 372
Нелидова Д.С. 247
Ненько Н.И. 253, 373
Нестеренко Т.В. 374
Нестеркина И.С. 375, 396, 403
Нестеров В.Н. 73, 376, 449, 515
Нечаева Т.Л. 377
Нигматуллина Л.Р. 100
Никерова К.М. 378
Никитин В.А. 135
Никишина Т.В. 118, 379
Николаева М.К. 322
Николаева Н.Н. 156, 380
Николаева Т.Н. 381
Николаева Ю.И. 301
Нилова И.А. 382, 533, 554
Ниловская Н.Т. 409
Нимаева О.Д. 383, 435
Ниязмухамедова М.Б. 384
Новикова Г.В. 331, 385, 555
Новикова Л.Ю. 386
Новикова Н.Е. 387
Новикова Т.И. 33, 192
Новицкая Л.Л. 14, 122, 520
Новичонок Е.В. 278, 388, 467
Носов А.В. 5, 331, 555
Носов А.М. 118, 281, 559
Нохсоров В.В. 389, 390, 391, 392, 393
Нужная Т.В. 89, 101, 102, 394
Нурминская Ю.В. 395
Нурминский В.Н. 305, 375, 396

О

Обручева Н.В. 397
Обуховская Л.В. 398
Овечкина Е.С. 399
Овсянникова А.М. 400
Огнева З.В. 401
Огородникова С.Ю. 263
Одинцова Т.И. 492, 493
Ожерельева З.Е. 402
Озолина Н.В. 267, 375, 396, 403
Окина О.И. 142
Олехнович Л.С. 583
Ольчев А.В. 436
Омарова З.А. 404
Омельченко А.В. 405
Опекунова М.Г. 406, 407
Орлова Ю.В. 323, 408
Осин Ю.Н. 456
Осипов Ю.А. 238, 412
Осипова Е.В. 132
Осипова Л.В. 409
Осколков В.А. 41
Осмоловская Н.Г. 116, 299, 410, 466
Остерман И.А. 129
Отурина И.П. 411

П

Павлинова Е.С. 35
Павлов А.В. 99
Павлов А.Г. 528, 529
Пак М.Э. 535
Палта Дж.П. 572
Панова А.В. 519
Панова Г.Г. 412
Панфилова О.Ф. 413
Панченко Л.В. 366
Папян Э.Э. 407
Парамонова Н.В. 414
Парникоза И.Ю. 199
Парфенова Н.В. 280
Патунина А.С. 68
Пахарькова Н.В. 415
Пахомова В.М. 416
Пашенова Н.В. 47
Пашковский П.П. 417
Пендинен Г.И. 572
Пенин А.А. 457
Перк А.А. 95, 103, 389, 390, 391, 392, 393, 418, 419, 420, 429, 522
Петров А.К. 389, 390, 391, 392, 393, 418, 419, 420,
Петров Р.Е. 328
Петрова А.А. 421
Петрова Н.В. 21, 609
Петрова О.Е. 143, 144, 154, 495
Петрова П.И. 84
Петроковская П.С. 422
Пикуленко М.М. 296
Пильщикова Н.В. 413

Пиотровский М.С. 423
Платонова Е.С. 424
Плахотская Ж.В. 35
Плотников Е.В. 241
Плотникова Ю.И. 511
Плюснина С.Н. 425
Пляшечник М.А. 165
Побежимова Т.П. 79, 148, 277, 320
Подварко А.Т. 208
Подковырина Т.Е. 157
Подоляк Д.И. 411
Подопригорина С.И. 486
Пожванов Г.А. 131, 426
Пожидаева Е.С. 51
Покусина Т.А. 551
Полякова Н.В. 311, 427, 601
Поморцев А.В. 148
Поморцева К.А. 428
Пономарева А.А. 641
Пономарев А.Г. 95, 103, 429, 522
Попкова А.С. 402
Попкова Л.Л. 430
Попов Вал.Н. 40, 46, 432
Попов Вас.Н. 432
Попова А.А. 206, 433
Попова В.Т. 433
Попова Л.Г. 432, 422
Попова Н.Ф. 116
Попова Ю.В. 195
Постригань Б.Н. 434
Потехина Т.М. 452
Потрахов Н.Н. 44
Прадедова Е.В. 383, 435
Пржевальская Д.А. 622, 623
Придача В.Б 436, 467, 528, 529
Приказюк Е.Г. 184, 437
Притула З.В. 64
Прокопчук Е.И. 438
Пронина Н.А. 297
Простокишина Е.П. 602
Прохоров В.Н. 239
Прудников П.С. 321, 402, 439
Прудникова О.Н. 443
Пузанский Р.К. 440, 518
Пузина Т.И 307, 325, 441
Путилина Т.Е. 193
Пухальская Н.В. 442, 490
Пчелкин В.П. 40, 484
Пшеницина Т.С. 491
Пшибытко Н.Л. 259
Пятин М.А. 566

Р

Разлуцкий В.И. 239
Ракитин В.Ю. 331, 443, 555
Ракитина Т.Я. 443
Ралдугина Г.Н. 54, 444
Раля Ф.Х. 330
Расулов Б.Х. 245
Рахимов М.М. 384
Рахманкулова З.Ф. 112, 445, 446
Рахматуллина С.Р. 446
Рейтер А.Е. 453
Репкина Н.С. 447, 516, 533, 554
Решетникова М.К. 130
Рихванов Е.Г. 320
Робонен Е.В. 571
Рогожин Е.А. 424, 448
Розенцвет О.А. 73, 376, 449, 515
Романенко А.С. 315
Романов Г.А. 369, 462
Романова И.М. 450
Романова М.А. 113, 180
Романюк Д.А. 570
Ронжина Д.А. 215, 219, 608
Роньжина Е.С. 451, 452, 453
Рубцова Н.А. 454
Рудас В.А. 147
Рудая О.А. 574
Руденко Н.Н. 224, 455
Рудиковская Е.Г. 177
Румянцев Д.Е. 575
Румянцева Н.И. 279, 456, 457
Русаков Д.В. 238
Русу М.М. 458
Рустамов А.Р. 458
Рыжик И.В. 460
Рыков А.Г. 121
Рябовол В.В. 641
Рязанова М.Е. 461
Рязанский С.С. 417

С

Савельева Е.М. 462
Савина С.М. 463
Савченко Т.В. 464
Садовская Н.С. 465, 540
Сазанова К.В. 466
Сазонова Н.И. 567

Сазонова О.В. 185
Сазонова Т.А. 436, 467, 528, 529
Саидмурадов Ш.Д. 468, 469
Сакович Д.А. 470
Салмин С.А. 471
Сальников В.В. 456
Саляев Р.К. 383, 435
Самединова Л.А. 472
Самойлов А.В. 195
Самородова А.П. 473
Санаева Ю.В. 187
Сарапкина Е.В. 575
Сафина А.Ф. 495
Сафонова О.Ю. 623
Свистюк Е.В. 37
Селезнева А.А. 35
Селиванов А.А. 46, 475
Селиванова Н.В. 475
Сельдимирова О.А. 476
Семенова А.С. 477
Семенова В.А. 162
Семин Б.К. 157, 314
Семина М.М. 106, 588
Сенькина С.Н. 478
Серая Л.Г. 47
Сердюк О.П. 479
Серебрякова О.Е. 480
Серегин И.В. 264
Середнева Я.В. 481
Серова Т.А. 257, 482
Сибгатуллин Т.А. 228, 229, 483
Сидоров Р.А. 484
Сидорчук Ю.В. 367, 485
Силина Е.В. 203
Симакова А.А. 315
Синенко О.С. 486
Синетова М.А. 487
Синицина Ю.В. 68, 481
Синькевич И.А. 488
Синькевич М.С. 489
Синюков В.В. 454
Синявина Н.Г. 412
Ситник М.И. 578
Ситников А.В. 490
Ситников И.А. 580
Скаженник М.А. 491
Скоробогатова И.В. 200
Скрипальщикова Л.Н. 165
Скрипко К.А. 130
Скрипникова Е.В. 201
Скрипникова М.К. 201
Славохотова А.А. 492, 493
Слезина М.П. 493, 494
Слемнев Н.Н. 587
Словохотов И.Ю. 598
Смирнов А.Н. 448
Смирнов А.С. 65
Смирнова В.С. 494
Смирнова Е.О. 495, 532
Смирнова Н.А. 174
Смирнова Т.А. 496
Смирнова Э.А. 497
Смирнова Ю.В. 298
Смоликова Г.Н. 498
Смолич И.И. 621
Смолыгина Л.Д. 479
Смолянина С.О. 271
Снегирева А.В. 573
Соболева Г.В. 499
Соколик А.И. 621
Соколова Л.Г. 315
Соколова М.Г. 500
Соколова М.К. 227
Соколова Н.А. 450
Соколянская Л.О. 241
Сокульская Ю.С. 407
Солиева Б.А. 19
Соловьев А.Г. 304
Соловьева А.Е. 43, 274
Соловьева А.И. 167, 501
Сомов В.В. 407
Сонина А.В. 502
Сорокань А.В. 89, 503
Сорокин А.Н. 376
Сосан А. 621
Софронова В.Е. 504, 505
Спивак С.Г. 598
Станиславчук А.В. 105
Стасова В.В. 32, 165, 210, 506
Степанов А.В. 320
Степанов С.А. 76, 120, 507
Степанова А.В. 587
Степанова А.Ю. 94
Стефанов С.Ю. 257
Стеценко Л.А. 508
Страшная А.И. 603
Стрельникова С.Р. 119
Стрельцова Д.Е. 621, 623
Стриж И.Г. 153
Стробыкина А.С. 526
Стручкова И.В. 68

Суворова Г.Г. 41, 220, 276, 509
Суворова Г.Н. 169, 510
Судник А.В. 239
Сундырева М.А. 373
Сурова Л.М. 511, 588
Суслов М.А. 39
Сухарева Т.А. 512
Сухов В.С. 511, 513, 588
Суходольская И.Л. 438

Т

Табаленкова Г.Н. 73, 203, 449, 514, 515
Таланова В.В. 97, 98, 447, 516, 533, 554, 564
Тараканов И.Г. 38, 212, 271, 517, 612, 612
Тараненко Е.Н. 355
Тарасова В.Н. 223
Тарасова Н.Б. 144
Тараховская Е.Р. 518, 519
Тарелкина Т.В. 520
Тарчевский И.А. 521
Татаринова Т.Д. 95, 103, 429, 522
Творогова В.Е. 473, 523
Тевфик А.Ш. 80
Теплицкая Л.М. 430, 472
Теребова Е.Н. 524
Терентьева М.П. 328
Терешонок Д.В. 94, 167, 424
Терещенко Л.М. 216
Тимергалина Л.Н. 525
Тиммерс Т. 256
Тимофеев К.Н. 157
Тимофеева Г.В. 262
Тимофеева О.А. 370, 526, 558, 581
Титов А.Ф. 11, 98, 226, 236, 516, 533, 592
Титова Г.Е. 476
Титова М.В. 559
Титова Н.В. 527
Тихова Г.П. 467, 528, 529
Тихомиров А.А. 96, 149, 400, 530, 531, 595
Тихомирова Н.А. 400, 530, 531
Тихонович И.А. 294
Ткаченко О.В. 181
Тодерич К.Н. 88
Толкунова Е.Ю. 142
Топоркова Я.Ю. 132, 143, 495, 532
Топчиева Л.В. 236, 365, 382, 533
Торшилова А.А. 91
Трапезников В.К. 290
Трекозова А.В. 534
Тренина М.Б. 194
Третьякова И.Н. 535
Трифонов С.В. 96
Трофимова М.С. 423
Трофимова О.И. 309, 536
Трофимова С.А. 537
Трунова Т.И. 163
Трухан И.С. 355
Тужилкина В.В. 538
Турковская О.В. 289, 366
Тюнин А.П. 401
Тюрин А.А. 147, 465, 539, 540
Тюркина Е.П. 621
Тютерева Е.В. 113, 164, 341, 541
Тютяев Е.В. 542

У

Уколова И.В. 269, 543
Ульяновская Е.В. 253
Умаров И.А. 618
Урманцева В.В. 118
Усатов А.В. 335, 544
Усатов Н.А. 544
Усманов И.Ю. 446, 605
Ушакова С.А. 96, 149, 400, 530, 531, 545, 595

Ф

Фадина О.А. 546
Фаезова Г.Ф. 605
Фарафонтов Д.С. 547
Фархутдинов Р.Г. 553
Фасхиев В.Н. 311, 548
Федина Е.О. 21, 549, 609
Федореева Л.И. 496
Федорин Д.Н. 185, 475, 550, 551
Федорина О.С. 552
Федорова К.А. 21, 31, 32, 609
Федорчук Т.П. 224, 445
Федяев А.В. 320

Федяев В.В. 553
Фенько А.А. 447, 554
Фоменков А.А. 331, 555
Фомина И.Р. 556
Фронтасьева М.В. 142
Фурсова А.И. 300

Х
Хабиева Н.А. 557
Хавкин Э.Е. 546
Хаджиев Т.А. 147
Хайруллин Р.М. 298, 326
Халекова Н.И. 321
Халилова Л.А. 323, 408
Халилуев М.Р. 50, 74, 598
Хамидуллина Л.А. 55, 558
Хамрабаева З.М. 614
Ханды М.Т. 559
Харитонашвили Е.В. 371
Харчук О.А. 560, 561
Хасан А.К. 191
Хиониди Э.Г. 135
Хоанг Т.Ж. 444
Холмогоров С.В. 562
Холодова В.П. 112, 191, 207
Холопцева Е.С. 563, 564
Хомидов Х.Н. 615
Хомяков Ю.В. 412
Хоробрых А.А. 617
Хоробрых С.А. 617
Хохлов Н.Ф. 38
Хохлова Л.П. 565
Хрипач В.А. 190, 191, 620, 623
Хроленко Ю.А. 87
Хрянин В.Н. 231, 566
Худякова А.Ю. 286
Хуснетдинова Л.З. 567

Ц
Цветкова А.А. 300
Цунская (488)
Цыбуля Н.В. 178, 202
Цыганов В.Е. 218, 256, 257, 294, 482, 568
Цыганова А.В. 257, 568
Цыденданбаев В.Д. 40, 484

Ч
Чай Ян 510
Чаркова А.А. 569
Чеботарева К.Е. 333, 587
Чекунова Е.М. 479
Чемерис А.В. 100
Чень Т. 570
Чепалов В.А. 389, 390, 391, 393, 505
Черкасских М.В. 550
Чернобровкина Н.П. 571
Чернов В.Е. 572
Чернова Т.Е. 573
Черныш М.А. 620
Чернышенко О.В. 574, 575
Чесноков Ю.В. 43, 140
Четвериков С.П. 292
Чечеткин И.Р. 71, 549
Чигинцова А.Е. 136
Чижевская Е.П. 257
Чиков В.И. 55, 558, 576
Чиркова Т.В. 184, 310, 437
Чмелева С.И. 300, 577, 578
Чубарь Е.В. 88
Чубукова О.В. 579
Чукина Н.В. 329, 580
Чурсина Н.Л. 350

Ш
Шаихова Д.Р. 580
Шаймуллина Г.Х. 370, 526, 581
Шакирова Ф.М. 21, 31, 32, 60, 339, 609
Шалыго Н.В. 173, 463
Шао Я. 464
Шарипова Г.В. 49, 582
Шарнина Т.Ф. 580
Шарпио Т.П. 168
Шатило В.И. 583
Шатунова С.А. 584
Шахова Т.Н. 490
Шведова А.Н. 283
Швиденко Н.В. 242
Шевченко В.В. 585
Шевченко С.В. 353
Шеленков А.А. 492
Шелепова О.В. 583
Шелоухова Н.А. 586
Шелудько Ю.В. 147, 485, 539
Шелякин М.А. 203
Шематорова Е.К. 50, 598
Шергина О.В. 355
Шереметьев С.Н. 587
Шерстнева О.Н. 511, 588
Шерудило Е.Г. 225, 226, 303, 591, 592

Шестакова В.В. 589
Шестибратов К.А. 311, 548
Шибаева Т.Г. 225, 226, 590, 591, 592
Шиков А.Е. 310
Широких И.Г. 606
Широков М.Ю. 406
Широкова Н.П. 593
Ширшикова Г.Н. 286, 319, 479
Шитов А.В. 594
Шихов В.Н. 149, 374, 595
Шихсефнев А.Т. 234, 235
Шишкану Г.В. 330
Шишова М.Ф. 440, 570, 596
Шклавцова Е.С. 531, 545
Шмакова Н.Ю. 186, 597
Шмарев А.Н. 286, 319
Шпаковский Г.В. 50, 598
Шплихалова А.В. 300
Шубин Н.А. 99
Шувалов А.В. 342, 422
Шугаев А.Г. 125, 126, 348, 599, 600
Шугаева Н.А. 599, 600
Шуйская Е.В. 88, 445
Шуканов В.П. 334, 601
Шулик В.В. 24
Шульгин И.А. 602, 603
Шуляковская Т.А. 380, 604
Шумкова Г.Н. 444

Щ

Щеголев С.Ю. 90, 181
Щербаков А.В. 605
Щипарев С.М. 466
Щуплецова О.Н. 606
Щуров В.И. 47

Э

Эргашев А. 458, 607
Эрлих Н.Т. 264
Эшонова З.Ш. 468, 469

Ю

Юдина П.К. 215, 608
Юлдашев Р.А. 21, 32, 609
Юлдошев Х.Ю. 615
Юмагулова Э.Р. 222
Юнусова А.И. 121
Юрин М.В. 358
Юркова И.Н. 405
Юрченко А.А. 342, 422
Юрьева Н.О. 147, 424
Юсупов М.Ш. 468
Юсуфов А.Г. 610

Я

Якимова О.В. 611
Якконен К.Л. 70
Яковлева О.С. 271, 612
Яковцева М.Н. 613
Якубова М.М. 468, 469, 615
Якушенкова Т.П. 616
Яныкин Д.В. 517
Ярин А.Ю. 71, 549
Ярмухаметова И.А. 553
Яруллина Л.Г. 618
Ястреб Т.О. 619

LIST OF AUTHORS

A-Z

Abdrakhimov F.A. 625
Abdrakhimova Y.R. 625
Apelt F. 629
Betekhtin A. 626, 628
Bochkaeva Z. 630, 635
Borah J. 633
Borowska-Zuchowska N. 628
Brambilla I. 633
Braszewska-Zalewska A. 628
Brenner W.G. 541
Demidchik V. 627, 638
Červeny J. 487
Chwialkowska K. 628
Chykun P. 638
Flis A. 629
Fünfgeld M. 629
Galasso I. 633
Handique N. 633
Hasterok R. 626, 628
Idziak D. 626, 628
Ivakov A.A. 629
Jemiola-Rzeminska M. 631
Jenkins G. 626
Kakilla C.E. 630
Kocurek M. 634
Kolbanov D. 638
Kornas A. 634
Kragler F. 629
Kuczynska P. 631
Kumar A. 632
Kus A. 626, 628
Kwasniewska J. 626, 628
Kwasniewski M. 628
Langdon T. 626
Mackievic V. 638
Mapelli S. 633
Mares V. 637
Medvedev S. 627
Miszalski Z. 634
Mohamed M.S. 635
Monneveux P. 637
Nedbal L. 487
Nosek M. 634
Pavlichenko V.V. 636
Pawlowski K. 180, 541
Persson S. 629
Pozhvanov G. 627
Protopopova M.V. 636
Quiroz R. 637
Rakhal B. 633
Ramirez D.A. 637
Robaszkiewicz E. 626, 628
Rolando J.L. 637
Rydin C. 180
Saikia S.P. 633
Scherer U. 629
Smolich I. 638
Sokolik A. 627, 638
Sosan A. 627, 638
Stitt M. 629
Straltsova D. 627, 638
Strzalka K. 631
Strzalka W. 631
Subramaniam S. 627, 638
Susek K. 626
Suslov D.V. 629
Svistinenko D. 627
Tripti 632
Tiurkina K. 627, 638
Valledor L. 487
Varaprasad M.N. 639
Vélëz H. 241
Vissenberg K. 629
Voinikov V.K. 636
Wolny E. 626, 629
Yactayo W. 637
Yang L. 640
Zhabinskii V. 638

Научное издание

РАСТЕНИЯ В УСЛОВИЯХ ГЛОБАЛЬНЫХ И ЛОКАЛЬНЫХ ПРИРОДНО-КЛИМАТИЧЕСКИХ И АНТРОПОГЕННЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ

Тезисы докладов Всероссийской научной конференции
с международным участием и школы для молодых ученых

(21-26 сентября 2015 г.)

Печатается по решению Ученого совета ИБ КарНЦ РАН

Техническая редакция и оригинал-макет Т.Г. Шибаева

Дизайн обложки Л.В. Ветчинникова, Т.Ю. Кузнецова

Подписано в печать 00.06.2015. Формат 60x84 1/8.
Гарнитура Times New Roman. Печать офсетная.
Усл.-изд. л. 67,5. Усл. печ.л. 73,2.
Тираж 650 экз. Заказ 285.

Карельский научный центр РАН
Редакционно-издательский отдел
185003, г. Петрозаводск, пр. А. Невского, 50