



Федеральное агентство научных организаций  
Российская академия наук  
Общество физиологов растений России  
Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН  
Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского  
Центр содействия научной, образовательной и просветительской деятельности «Соцветие»



*Годичное собрание Общества физиологов растений России  
Научная конференция и школа молодых ученых*

# ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ БИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ: ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ

*18-24 сентября 2017 года, Крым, Судак*

*Сборник материалов докладов*



УДК: 574/577  
ББК: 28.57

Экспериментальная биология растений: фундаментальные и прикладные аспекты: Годичное собрание ОФР, науч. конф. и школа для мол. уч., 18-24 сент. 2017 г., Судак: сб. мат. докл. / Отв. ред. Вл.В. Кузнецов – М: Изд-во АНО «Центр содействия научной, образовательной и просветительской деятельности «Соцветие», 2017. - 393 с.

ISBN 978-5-6040052-0-0

*Электронное издание. Постоянный адрес размещения <http://ofr.su/crimea2017>*

#### **КОНТАКТЫ ОРГКОМИТЕТА:**

127276, Россия, Москва, Ботаническая ул. 35. Тел. +7 (905) 5150095, E-mail: [crimea2017@ofr.su](mailto:crimea2017@ofr.su)

ISBN 978-5-6040052-0-0



© Общество физиологов растений России, 2017  
© Институт физиологии растений  
им. К.А. Тимирязева РАН, 2017  
© Центр содействия научной, образовательной  
и просветительской деятельности «Соцветие», 2017

**СОДЕРЖАНИЕ**

<b>Программа мероприятия</b>	<b>4</b>
<b>Пленарные доклады</b>	<b>10</b>
<b>Устные доклады</b>	<b>18</b>
<b>Стендовые доклады</b>	<b>77</b>
<b>Материалы круглого стола «Инновационные подходы в университетском образовании в области экспериментальной биологии растений»</b>	<b>369</b>
<b>Авторский указатель</b>	<b>383</b>

## ПРОГРАММА МЕРОПРИЯТИЯ

### 18 сентября, понедельник

Заезд участников

12:00-17:00 Регистрация (*Бизнес-центр, 2-й эт.*)

*Экскурсии в Генуэзскую крепость*

### 19 сентября, вторник

09:00-10:30 Регистрация (*Бизнес-центр, 2-й эт.*)

#### Зал "Крым"

10:30-11:00 Открытие

11:00-11:50 Кузнецов Владимир Васильевич, чл.-корр. РАН (ИФР РАН, Москва) "Физиология растений и глобальные вызовы"

11:50-12:40 Минюк Галина Семеновна, к.б.н. (ИМБИ РАН, Севастополь) "Зеленые микроводоросли как потенциальный источник кетокаротиноидов. Стратегия и тактика скрининга, перспективы исследований и практического использования"

12:40-13:00 Фотография участников (терраса Бизнес-центра)

13:00-14:30 Обеденный перерыв

14:30-15:15 Гоголев Юрий Викторович, д.б.н. (КИББ КазНЦ РАН, Казань) "Растительно-микробный диалог при построении патосистем"

15:15-16:00 Дейнеко Елена Викторовна, д.б.н. (ИЦИГ СО РАН, Новосибирск) "Растительные системы экспрессии для получения биофармацевтиков: проблемы и перспективы"

16:00-16:30 Кофе-брейк (терраса Бизнес-центра)

16:30-17:15 Серегин Илья Владимирович, д.б.н. (ИФР РАН, Москва) "Роль низкомолекулярных хелаторов в транспорте и аккумуляции металлов в растениях"

20:-22:00 Приветственный фуршет (кафе «Арзы», набережная)

### 20 сентября, среда

#### Зал "Крым", Бизнес-центр

10:00-10:30 **Пленарный доклад** Лысенко Евгений Анатольевич, к.б.н. (ИФР РАН им. К.А. Тимирязева РАН, Москва) "Кадмий и хлоропласты: Поиск молекулярных мишеней"

10:30-11:30 **Заседание 1 секции "Механизмы устойчивости и продуктивности растений"**

(15) Горшкова Татьяна Анатольевна, КИББ КазНЦ РАН, Казань  
Факторы транскрипции как ключевые регуляторы формирования клеточной стенки

(15) Соловьев Андрей Геннадьевич, НИИ ФХБ им.Белозерского МГУ, Москва  
Белки, участвующие в системном транспорте РНК по флоэме

(15) Тихомиров Александр Аполлинарьевич, ИБФ СО РАН, Красноярск  
Устойчивость и риски культивирования высших растений в условиях замкнутых экосистем

(10) Баранова Екатерина Николаевна, ВНИИСБ, Москва

Эффекты слабых магнитных полей на растительную клетку: морфология, ультраструктура, цитоскелет

**Зал "Судак", Бизнес-центр**

10:00-10:30 **Пленарный доклад.** Третьякова Ираида Николаевна, ИЛ СО РАН, Красноярск

Длительно пролиферирующие эмбриогенные культуры *Larix sibirica in vitro* (эмбриогенная продуктивность, иммуногистохимическое выявление локализации гормонов и генотипирование)

10:30-11:30 **Заседание 1 секции "Биотехнология растений и микроорганизмов"**

(15) Егорова Наталья Алексеевна, НИИСХ Крыма, Симферополь

Разработка селективных систем *in vitro* для получения форм эфиромасличных растений, устойчивых к низкотемпературному стрессу

(15) Зайцева Юлианна Геннадьевна, ЦСБС СО РАН, Новосибирск

Морфогенез *in vitro* и генетическая стабильность регенерантов *Rhododendron mucronulatum* под действием тидиазурина

(15) Маркова Юлия Александровна, СИФИБР СО РАН, Иркутск

Использование лекарственных растений для управления развитием микробных биопленок

11:30-11:50 Кофе-брейк

11:50-13:00 **Заседание 2 секции "Механизмы устойчивости и продуктивности растений"**

(15) Тютерева Елена Владимировна, БИН РАН, Санкт-Петербург

Латеральная подвижность белковых комплексов и липидов в мембранах хлоропластов: влияние на фотосинтез

(10) Нестеров Виктор Николаевич, ИЭВБ РАН, Тольятти

Обнаружение и исследование липидных рафтов в мембранах клеточных органелл галофитов

(10) Савченко Татьяна Викторовна, ИФПБ РАН, Пущино

Алленоксидсинтазная и гидропероксидлиазная ветви пути биосинтеза оксипиринов: новые функции в регуляции первичного метаболизма и защите фотосинтетического аппарата от фотоингибирования

(10) Иванова Мария Владимировна, СИФИБР СО РАН, Иркутск

Адаптивные изменения жирнокислотного состава липидов хвойных в условиях вегетации

(10) Гайфуллина Ильзира Зуфаровна, КИББ КазНЦ РАН, Казань

Полисахариды слизи, образуемой семенами льна при набухании: особенности строения и функциональная значимость

11:50-13:00 **Заседание 2 секции "Биотехнология растений и микроорганизмов"**

(20) Сидорчук Юрий Владимирович, ИЦИГ СО РАН, Новосибирск

Биосинтез рекомбинантных белков в культурах клеток высших растений

(15) Рогожин Евгений Александрович, ИБХ РАН, Москва

Разнообразие антимикробных полипептидов в семенах черного тмина (*Nigella sativa* L.) - источника антибиотиков нового поколения

(15) Челебиева Элина Сергеевна, ИМБИ, Севастополь

Особенности вторичного каротиногенеза у зеленых микроводорослей порядка Volvocales

(15) Филонова Мария Васильевна, НИ ТГУ, НИИФирм им. Е.Д. Гольдберга ТНИМЦ РАН, Томск

Каллусная культура *Conium maculatum* L. - перспективный источник фуранокумаринов

13:00-14:30 Обеденный перерыв

**14:30-16:00 Заседание 3 секции "Механизмы устойчивости и продуктивности растений"**

(15) Казнина Наталья Мстиславовна, ИБ КарНЦ РАН, Петрозаводск

Устойчивость растений к недостатку цинка: современные представления и первоочередные задачи исследований

(15) Землянухина Ольга Александровна, ВГУ, Воронеж

Выявление методами многомерного статистического анализа ведущих факторов биохимической адаптации микроклонов вейгелы при стрессах, вызванных повышенным содержанием в культуральной среде морской соли и ионов меди

(10) Кулуев Булат Разяпович, ИБГ УНЦ РАН, Уфа

Рост трансгенных растений табака с конститутивной экспрессией генов глутатионсинтазы рапса и глутатион-S-трансферазы *Arabidopsis thaliana* при действии стрессовых факторов

(10) Ралдугина Галина Николаевна, ИФР РАН, Москва

Как трансгенные растения рапса со встроенным геном *Osmr4* адаптируются к избыточному содержанию  $\text{CuSO}_4$  в среде

(10) Супрун Андрей Романович, ДВФУ, Владивосток

Совместное действие ультрафиолета с и р-кумаровой кислоты на накопление стильбенов и экспрессию генов, участвующих в биосинтезе стильбенов в лианах дикорастущего винограда *Vitis Amurensis* Rupr.

(10) Емельянов Владислав Владимирович, СПбГУ, Санкт-Петербург

Салициловая кислота и адаптация растений к недостатку кислорода и последующему окислительному стрессу

**14:30-16:00 Заседание 3 секции "Биотехнология растений и микроорганизмов"**

(15) Халилуев Марат Рушанович, ВНИИСБ, Москва

Новый методологический подход к сравнительной оценке генотипов томата (*Solanum lycopersicum* L.) по солеустойчивости в условиях *in vitro*

(15) Вершинина Зия Рифовна, ИБГ УНЦ РАН, Уфа

Агглютинины в биоинженерии искусственных симбиотических систем

(15) Тугарова Анна Владимировна, ИБФРМ РАН, Саратов

"Зеленый синтез" селеновых наночастиц ризобактериями *Azospirillum brasilense*: механизмы бактериального восстановления селенит-ионов

(15) Евсеева Нина Васильевна, ИБФРМ РАН, Саратов

Растительно-бактериальные ассоциации в условиях *in vitro* и *ex vitro*

16:00-16:20 Кофе-брейк

**16:20-17:30 Заседание 4 секции "Механизмы устойчивости и продуктивности растений"**

(15) Максимов Трофим Христофорович, ИБПК СО РАН, Якутск

Пространственно - временные вариации основных составляющих углеродного цикла мерзлотных экосистем Северо-востока России

(10) Шибаета Татьяна Геннадиевна, ИБ КарНЦ РАН, Петрозаводск

Особенности реакции теплолюбивых растений на низкотемпературные воздействия разного типа

(10) Табаленкова Галина Николаевна, ИБ КомиНЦ УрО РАН, Сыктывкар

Состояние воды и биохимический состав почек древесных растений при перезимовке в условиях Севера

(10) Боровский Геннадий Борисович, СИФИБР СО РАН, Иркутск

Жизнь при постоянном стрессе. Биологические свойства растений картофеля, трансформированного геном глюкозооксидазы

(10) Губанова Татьяна Борисовна, НБС-ННЦ РАН, Ялта

Особенности фотосинтетической активности у видов семейства *Oleaceae* в связи с морозостойкостью

**16:20-17:30 Заседание 1 секции "Взаимодействие растений с другими организмами"**

(15) Белимов Андрей Алексеевич, ВНИИСХМ, Санкт-Петербург

Роль симбиотических микроорганизмов в устойчивости *Pisum sativum* L. к абиотическим стрессам

(15) Баймиев Андрей Ханифович, ИБГ УНЦ РАН, Уфа

Бобово-ризобияльный симбиоз: что выбирают растения?

(15) Горина Светлана Сергеевна, КИББ КазНЦ РАН, Казань

Липоксигеназный каскад растений: динамика экспрессии генов при инфицировании фитопатогенами и структурно-функциональная характеристика соответствующих ферментов

(15) Икконен Елена Николаевна, ИБ КарНЦ РАН, Петрозаводск

Влияние кратковременных ежедневных понижений температуры на фотосинтез и дыхание листьев огурца, пораженных ложной мучнистой росой

**21 сентября, четверг**

День знакомства с научными учреждениями Крыма (Никитский ботанический сад, Карадагская научная станция им.Т.И. Вяземского - природный заповедник РАН)

**22 сентября, пятница**

Бизнес-центр

**Зал "Крым"****10:00-11:30 Заседание 5 секции "Механизмы устойчивости и продуктивности растений"**

(15) Головки Тамара Константиновна, ИБ КомиНЦ УрО РАН, Сыктывкар

Активность энергодиссипирующих и антиоксидантных систем теневого и светового фенотипов растений

(10) Шитов Александр Васильевич, ИФПБ РАН, Пущино

Исследование скоростей гидратазного и дегидратазного направлений карбоангидразной активности в фотосистеме 2

(15) Креславский Владимир Данилович, ИФПБ РАН, Пущино

Фитохромная регуляция стресс-устойчивости фотосинтетического аппарата высших растений

(10) Михайлова Елена Андрияновна, ИФ КомиНЦ УрО РАН, Сыктывкар

Регуляция онтогенеза растений пектиновыми полисахаридами

(10) Воронин Павел Юрьевич, ИФР РАН, Москва

Новый метод количественного определения водного потенциала апопласта клеток мезофилла в подустьичной полости листа

(10) Зубей Екатерина Сергеевна, ИЭБ НАН Беларуси, Минск

Влияние пониженного водного потенциала субстрата на параметры водного обмена модифицированных по PIP аквапоринам растений *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.

**Зал "Судак"****10:00-11:30 Заседание 2 секции "Взаимодействие растений с другими организмами"**

(15) Горшков Владимир Юрьевич, КИББ КазНЦ РАН, Казань

Восприимчивые ответы растений как фундаментальная основа развития растительно-микробных патосистем

(15) Андронов Евгений Евгеньевич, ВНИИСХМ, Санкт-Петербург

Эффект «прессформинга» в коэволюции растительно-микробных симбиотических систем

(15) Петрова Ольга Евгеньевна, КИББ КазНЦ РАН, Казань

Строгий ответ у *Nicotiana tabacum* и *Pectobacterium atrosepticum* SCRI1043 при формировании патосистемы

(15) Губаев Рим Фаридович, КИББ КазНЦ РАН, Казань

Глобальное профилирование патоген-индуцируемых ответных реакций растений с помощью РНК-секвенирования

(15) Михайлова Елена Владимировна, ИБГ УНЦ РАН, Уфа

Использование трансгенных растений семейства *Brassicaceae* в модельных системах по исследованию процессов гибридизации

11:30-11:50 Кофе-брейк

#### 11:50-13:00 Заседание 6 секции "Механизмы устойчивости и продуктивности растений"

(15) Бурундукова Ольга Леонидовна, ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН, Владивосток

Мезоструктура и функциональная активность фотосинтетического аппарата сортов риса интенсивного и экстенсивного типа: поиск способов интенсификации фотосинтеза альтернативных C4 трансгенозу

(10) Ахтямова Гузель Адгамовна, КИББ КазНЦ РАН, Казань

Донорно-акцепторные отношения при использовании продуктов фотосинтеза на ранних этапах онтогенеза злаковых

(10) Галибина Наталия Алексеевна, ИЛ КарНЦ РАН, Петрозаводск

Сверхэкспрессия апопластной инвертазы в камбиальной зоне приводит к изменению сценария ксилогенеза и сопровождается снижением продуктивности древесных растений

(10) Власова Инна Ивановна, ИМГиГ ДВО РАН, Южно-Сахалинск

Адаптивные возможности древесных растений в условиях вулканических ландшафтов

(10) Кособрюхов Анатолий Александрович, ИФПБ РАН, Пущино

Эколого-физиологические характеристики видов произрастающих на приливно-отливной зоне Белого моря

#### 11:50-13:00 Заседание 3 секции "Взаимодействие растений с другими организмами"

(15) Цыганов Виктор Евгеньевич, ВНИИСХМ, Санкт-Петербург

Реорганизация органелл в ходе дифференцировки растительной клетки азотфиксирующего клубенька

(15) Цыганова Анна Викторовна, ВНИИСХМ, Санкт-Петербург

Изучение микробно-растительного интерфейса в ходе развития симбиотического клубенька

(10) Сарварова Елена Рафисовна, ИБГ УНЦ РАН, Уфа

Симбиоз растений с эндофитными бактериями

(10) Васильева Екатерина Николаевна, СПбГУ, Санкт-Петербург

Разнообразие культивируемых эндофитных бактерий гороха посевного (*Pisum sativum* L)

(10) Широких Ирина Геннадьевна, ВятГУ, Киров

Актиномицеты в ризосфере некоторых сельскохозяйственных растений

13:00-14:30 Обеденный перерыв

#### Зал "Судак"

14:30-17:30 Свободный зал для проведения деловых встреч, переговоров, презентаций.

#### Зал "Крым"

14:30-16:00 **Круглый стол "Инновационные подходы в университетском образовании в области экспериментальной биологии растений"**

(10) Киселева Ирина Сергеевна (УрФУ, Екатеринбург)

Целесообразность создания сетевых программ магистратуры в области экспериментальной биологии и биотехнологии растений



(10) Охлопкова Жанна Михайловна (СВФУ, г.Якутск)

Разработка междисциплинарной магистерской программы «Клеточные биотехнологии» в рамках стратегических академических единиц «Экосистемы Севера» и «PALEOMIR» СВФУ

(10) Марковская Евгения Федоровна (Петр ГУ, Петрозаводск)

Инновационные подходы в университетском образовании в области экспериментальной биологии растений

(10) Хрянин Виктор Николаевич (Пензенский ГУ, г. Пенза)

Проектная деятельность как средство развития творческого потенциала студента при изучении физиологии растений

(10) Синицына Юлия Витальевна (ННГУ, Нижний Новгород)

Опыт использования проектно-ориентированного обучения в реализации магистерской программы «Физиология растений»

(10) Чиков Владимир Иванович (Казань, КИББ КазНЦ РАН)

Наиболее распространенные ошибки в планировании опытов и интерпретации полученных данных

16:00-16:20 Кофе-брейк

16:20-17:30 Заседание ОФР

17:30-18:00 Закрытие Годичного собрания ОФР

19:00-22:00 Товарищеский ужин

## **23 сентября, суббота**

Экскурсионная программа

## **24 сентября, воскресенье**

Отъезд участников

# Пленарные доклады

## Растительно-микробный диалог при построении патосистем

Гоголев Ю.В., Горшков В.Ю., Петрова О.Е., Гоголева Н.Е., Даминова А.Г., Сальников В.В., Губаев Р.Ф.,  
Миropyчева А.А., Тарасова Н.Б.

ФГБУН Институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, 420111, ул. Лобачевского, 2/31, Казань, Россия.  
[gogolev.yuri@gmail.com](mailto:gogolev.yuri@gmail.com)

История изучения растительно-микробных симбиозов насчитывает более столетия. За это время не только значительно расширился список симбиотических микроорганизмов, но также изменилось представление о формах их совместного существования с растениями и способах кооперации. Крайние специализированные формы, такие как бобово-ризобийный симбиоз, связанный с формированием специальных органов, протекающий по взаимно отлаженной программе, управляемый тонко настроенными сигнальными системами, строго распознающими партнеров, были дополнены представлениями об эпифитах, эндофитах и ризосферной микробиоте. Кроме понимания того, что все органы и ткани растений подвергаются колонизации, стало очевидно, что выбор партнеров не всегда можно объяснить безусловной взаимной выгодой. Иммунотолерантностью и даже программами поддержки, такими как корневая экссудация, пользуются микроорганизмы широкого спектра видов, среди которых могут быть и вирулентные формы, такие как биотрофные эндофитные грибы, микоплазмы, ралстони, оомицеты, а также некоторые нематоды.

Неожиданным открытием стало то, что эти же механизмы могут быть задействованы при построении растительно-микробных патосистем с некротрофными патогенами. Оказалось, что по крайней мере некоторые из них формируются в результате физиологической интеграции растений и микроорганизмов, основанной на взаимной адаптации партнеров к длительному сосуществованию. При этом адаптивный потенциал микроорганизмов обусловлен фенотипической пластичностью и гетерогенностью их популяций. В большинстве случаев микробные популяции состоят из дифференцированных клеток, представляющих набор клеточных фенотипов, которые различаются по резистентности к стрессорам, степени вирулентности, компетентности к внешним сигналам. Процесс адаптации растений в значительной мере контролируется системами гормональной регуляции и сигнальными системами, которые связаны в единую сигнально-регуляторную сеть.

Для успешной колонизации и прохождения жизненного цикла *in planta* микробные популяции способны проводить преобразование внутренней среды организма-хозяина и обеспечивать сигнальный диалог (кросс-толк), позволяющий ориентироваться в изменениях состояния партнера и по возможности манипулировать его ответными реакциями. Фитопатогены ведут мониторинг физиологических процессов, происходящих в растении, воспринимая его эндогенные сигналы, а также могут использовать элементы сигнально-регуляторной сети растений в качестве мишени для изменения «поведения» хозяина. Это явление исследовалось на примере микроорганизмов, продуцирующих фитогормоны, однако в широком смысле остается мало изученным. Так, энтеробактерии, возбудители «мягких гнилей» (soft-rot *Enterobacteriaceae*), долгое время относили к типичным некротрофам, которые взаимодействуют с хозяином исключительно с применением «грубой силы». Однако, было продемонстрировано, что колонизация этими бактериями сосудов ксилемы не всегда сопровождается мацерацией тканей, а может быть связана с построением мультиклеточных структур, способствующих закреплению и расселению микроорганизмов. При этом растения снабжают патогенов полисахаридами, фенольными и перекисными соединениями, служащими строительным материалом для данных структур и не оказывают на бактерии существенного влияния с помощью защитных механизмов. В то же время, в геноме возбудителей мягких гнилей было показано наличие генов, характерных для биотрофных патогенов, что свидетельствует о способности этих бактерий к кросс-толку и возможности проведения глубокой стратегии длительного сосуществования с растениями. Данная стратегия микроорганизма выражается в латентной инфекции, а соответствующее ей состояние макроорганизма представляет собой носительство. Вероятно, именно носительство является наиболее распространенной формой инфекции и служит естественным резервуаром патогенов и полигоном для выработки и распространения у них новых факторов вирулентности и устойчивости, в том числе, устойчивости к антибиотикам.

Явление носительства является давним предметом пристального изучения. Показана его роль в развитии и поддержании иммунного статуса макроорганизма. Однако, некоторые новые аспекты, выявленные в последнее время, позволяют рассматривать патосистемы как неотъемлемую часть сложных сообществ и указывают на их возможное более существенное эволюционное и экологическое значение.

Работа поддержана грантом РФФ №17-14-01363.

Изучение мягких гнилей проводилось при поддержке грантом РФФИ №17-04-01908.

**Растительные системы экспрессии для получения биофармацевтиков: проблемы и перспективы***Дейнеко Е.В.*

ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН»,  
пр-т ак.Лаврентьева, 10, Новосибирск, Россия  
[deineko@bionet.nsc.ru](mailto:deineko@bionet.nsc.ru)

Привлекательность растений в качестве систем экспрессии для накопления рекомбинантных фармацевтически ценных белков обеспечивается многими обстоятельствами. В растительных тканях нет риска загрязнения рекомбинантного белка патогенами животного происхождения – вирусами и прионами. Растительные клетки обеспечивают правильную посттрансляционную модификацию рекомбинантного белка, характерную для эукариотических клеток, а также его сборку и фолдинг. Экспрессированные в растительных клетках рекомбинантные белки могут быть направлены в различные компартменты растительной клетки, а также в апопласт и различные органы растения. В настоящее время большое число белков медицинского назначения получают не из природных источников, а синтезируют их рекомбинантные аналоги в различных системах экспрессии (*E.coli*, дрожжи, клетки животных и др.). Использование растений для получения рекомбинантных белков является экономически значимым и перспективным направлением, развивающимся как альтернатива традиционным. Большая часть уже существующих на сегодняшний день терапевтических белков получена с помощью стабильной ядерной трансформации с последующим выделением и их очисткой из трансгенных растений. Однако, законодательные запреты на выращивание генно-модифицированных растений во многих странах делают невозможным использование растений как биореакторов. Перспективным направлением, позволяющим преодолеть существенные недостатки использования трансгенных растений в качестве биофабрик, представляется культивирование растительных клеток в ферментерах. Технология культивирования растительных клеток обеспечивает точное соблюдение условий выращивания клеток. Выращивание клеточных суспензий в стерильных реакторах не только элиминирует риск заражения культуры клеток микотоксинами и пестицидами, но также снижает до минимума возможность переноса генетически модифицированных клеток в окружающую среду. Системы экспрессии, основанные на суспензиях клеток растений, являются чрезвычайно перспективными для этих целей, поскольку сочетают достоинства эукариотической системы биосинтеза белка, а также простоту и дешевизну бактериальной. В ближайшем будущем получение биофармацевтиков в суспензионных культурах клеток растений станет достаточно широко используемым подходом к созданию эффективных растительных систем экспрессии, наиболее полно соответствующим принципам GMP.

Не смотря на успешность использования суспензионных клеточных культур растений для коммерческого получения фармбелков, в этом направлении остается достаточно много нерешенных проблем, наиболее важной среди которых является недостаточно высокий выход рекомбинантного белка. В настоящее время многие крупные мировые фармакологические компании и исследовательские коллективы работают над решением этой проблемы, что подчеркивает ее актуальность для биотехнологии. Использование суспензий растительных клеток для производства рекомбинантных белков различного назначения сдерживается частично из-за недостаточно высокого уровня их накопления, который составляет, как правило, не более 1% от уровня общего растворимого белка. В настоящее время усилия исследователей направлены на преодоление данной проблемы с помощью подбора оптимальных условий культивирования, разработки новых генетических конструкций, эффективно экспрессирующихся в растительных клетках, поиска новых подходов, позволяющих уменьшить уровень деградации целевых рекомбинантных белков, а также за счет поиска наиболее «благоприятных» событий при случайном характере интеграций трансгенов в растительный геном.

Для обеспечения максимально высокого уровня биосинтеза рекомбинантных белков используется доставка целевых генов в хлоропластный геном растений, а также разрабатываются новые подходы адресной интеграции целевых генов в транскрипционно-активные районы растительного генома с применением системы геномного редактирования CRISPR/Cas9. При трансформации пластид не наблюдается проблем характерных для ядерной трансформации, таких как замолкание генов, эпигенетические эффекты или вариабельность экспрессии трансгенов. Высокий уровень экспрессии генов, перенесенных в хлоропластный геном, или пластом, достигается высокой копийностью пластидной ДНК. Многочисленные исследования показали, что хлоропласты имеют огромные возможности для экспрессии чужеродных белков на уровне, достигающем 70% от общего растворимого белка и намного превышающем уровень экспрессии при ядерной трансформации. Однако круг рекомбинантных белков, которые могут быть синтезированы в хлоропластной системе экспрессии, ограничен. Развитие и совершенствование методов геномного редактирования дает возможность их применения для адресной доставки целевых генов в районы с повышенной транскрипционной активностью, например, в транскрипционно-активные районы генов рРНК ядрышкового организатора. Проводится сравнительный анализ транскрипционной активности *gfp*-гена в выбранном участке межгенного спейсера области рРНК-генов и при его случайной интеграции в геном растения с использованием моноклональных клеточных линий, созданных на основе быстрорастущей суспензионной культуры клеток *A. thaliana*, полученной в Институте физиологии растений РАН (г. Москва).

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ:17-14-01099.

## **Физиология растений и глобальные вызовы**

*Кузнецов Вл.В.*

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН. Ботаническая ул., 35, Москва, Россия.  
[vlkuzn@mail.ru](mailto:vlkuzn@mail.ru)

Физиология растений изучает закономерности, механизмы и регуляцию протекания сложных физиологических явлений и процессов. Она занимает промежуточное положение между общей биологией и физико-химической биологией. Стратегическим направлением развития физиологии растений является регуляция и интеграция физиологических процессов в растительных системах различного уровня сложности в ходе онтогенеза и адаптации. Современная физиология растений движется в направлении молекулярной физиологии растений. Физиология растений – наука фундаментальная, тем не менее, она вовлекается в решение глобальных общечеловеческих проблем, таких как, например, проблема голода. Физиология растений является теоретической базой интенсивного земледелия. С рядом смежных дисциплин она была фундаментальной основой трех зеленых революций, каждая из которых приводила к удвоению урожая. На современном этапе развития науки формируется новое направление – физиология трансгенного растения, которое может стать теоретической базой развития современной аграрной индустрии с целью получения высокопродуктивных и безопасных для человека и окружающей среды сортов растений. Оценка биологической и экологической безопасности при использовании трансгенных растений – задача мультидисциплинарная, важная роль среди которых принадлежит и физиологии растений. Другая общечеловеческая проблема – борьба с болезнями. Для ее решения растения выступают в качестве источника десятков тысяч ценных биологически активных соединений для медицины и фармакологии. Их получение из дикорастущих видов растений приведет к истощению или к полному исчезновению сырьевой базы. Данная проблема может быть решена с использованием новых крайне перспективных технологий, к которым относятся изолированные органы и клетки растений - суперпродуценты важнейших лекарственных соединений и косметических средств. Так, например, корни исчезающего лекарственного растения шлемника байкальского, внесенного в Красную книгу, содержат флавоны, среди которых вагонин обладает селективной антиканцерогенной активностью, тогда как культуры клеток тиса являются продуцентами противоопухолевых дитерпеноидов, в частности, паклитаксела. Среди других глобальных вызовов следует назвать сохранение биоразнообразия генофондов редких и исчезающих видов растений с привлечением технологии криосохранения, поиск альтернативных источников энергии, экономное расходование пресной воды и сохранение окружающей среды. В докладе проводится идея, что важное место в разработке теоретических основ решения стоящих перед человечеством глобальных проблем принадлежит физиологии растений.

## **Кадмий и хлоропласты: Поиск молекулярных мишеней**

*Лысенко Е.А.*

Институт физиологии растений РАН, ул. Ботаническая 35 Москва, Россия.  
[genlysenko@mail.ru](mailto:genlysenko@mail.ru)

Кадмий – один из наиболее токсичных тяжёлых металлов. Он ингибирует множество молекулярных процессов и в результате этого подавляет рост и развитие растений. Рост требует энергии, и фотосинтез является важнейшим её источником. Многочисленные исследования показывают, что кадмий уменьшает эффективность процессов фотосинтеза. Это продемонстрировано в работах как *in vitro*, так и *in vivo*. На уровне системного «взгляда сверху» это не вызывает сомнения. Граница между понятным и неизведанным сместилась к двум следующим принципиальным вопросам.

Во-первых, оказывает ли Cd прямое ингибирующее действие на молекулярные процессы фотосинтеза? Или же изменение в работе фотосинтеза обусловлено непрямым воздействием: Cd непосредственно подавляет другие молекулярные процессы, а вслед за их изменением, меняется и активность процессов фотосинтеза.

Во-вторых, если Cd всё таки непосредственно ингибирует фотосинтез, то что он ингибирует в большей степени? Фотосинтез происходит в хлоропластах. Его свето-зависимая фаза локализована в тилакоидах, а свето-независимая («темновая») – в строме. Что же именно ингибирует Cd в хлоропластах: световую или темновую фазу, и какие конкретно молекулярные комплексы?

В современной экспериментальной биологии используются подходы *in vitro* и *in vivo*, каждый из которых имеет свои достоинства и недостатки. Важную роль играет и количественный анализ поступления кадмия в хлоропласты и распределения внутри них. Количественный анализ позволяет сравнивать накопление Cd с количеством других катионов, что позволяет отличать мишени вполне вероятные от явно невозможных мишеней.

В докладе будут рассмотрены различные подходы, их особенности, и полученные с их помощью данные. Будут проанализированы наиболее важные факты, накопленные мировой наукой за 40 лет, а также результаты наших последних исследований.

Работа поддержана проектом РФФ № 14-14-00584.

## Зеленые микроводоросли как потенциальный источник кетокаротиноидов. Стратегия и тактика скрининга, перспективы исследований и практического использования

Милюк Г.С.

ФГБУН Институт морских биологических исследований, пр. Нахимова, 2, Севастополь, Россия  
[gsmilyuk@mail.ru](mailto:gsmilyuk@mail.ru)

Некоторые виды зелёных микроводорослей при резком ухудшении условий внешней среды накапливают в липидных включениях цитоплазмы значительное (коммерчески значимое) количество специфических вторичных С<sub>40</sub>-кетокаротиноидов (ККар) – продуктов ферментативного окисления β-каротина в астаксантин (3,3'-дигидрокси-β,β-каротин-4,4'-дион) (Аст). Этот процесс является ключевым звеном комплекса физиолого-биохимических адаптаций экстремофильных видов Chlorophyta к абиотическому стрессу. Его основные функции заключаются в экранировании клеток от чрезмерной УФ-радиации, оттоке избыточных фотоассимилятов из хлоропластов, ингибировании оксидативного стресса путем связывания O<sub>2</sub> (как источника АФК) в составе ксантофиллов и непосредственного участия ККар в детоксикации свободных радикалов.

Существенное увеличение интереса к исследованию этого явления у микроводорослей в последние 15-20 лет вызвано выявлением у Аст исключительно высоких антиоксидантных и регуляторных свойств. Растущий спрос на более эффективную и безопасную природную форму пигмента в медицине, аквакультуре и производстве БАД уже не удовлетворяется небольшими объемами его производства из основного источника – зелёной микроводоросли *Haematococcus pluvialis* Flotow. При высоком содержании Аст в биомассе (до 5%) данный вид характеризуется рядом неблагоприятных для массового культивирования биологических признаков, определяющих высокую себестоимость водорослевого Аст и многолетнюю стагнацию его рынка. Одним из вариантов выхода из сложившейся ситуации может быть поиск новых, более рентабельных продуцентов Аст, среди которых наибольший практический интерес представляют обитатели временных водоемов, аэрофильные и почвенные виды, испытывающие действие экстремальных факторов среды (высокой температуры, освещенности, острого дефицита питания и др.) лишь периодически и переживающие неблагоприятные периоды в стадии покоя. Многие из них способны при определенных условиях накапливать до 1.5-2% ККар, представляющих собой смесь Аст и его ближайших метаболитических предшественников (кантаксантина, адониксантина адонирубина, β-криптоксантина, ехиненона), в которой на долю Аст приходится около 50-60% от суммы ККар. Более низкое содержание Аст, по сравнению с *H. pluvialis*, компенсируется у таких видов более высокой скоростью роста, более широкой экологической валентностью, а также способностью к массивному накоплению липидов (до 40-50% сухого вещества), пригодных для получения качественного биодизеля. Последнее позволяет рассматривать их биомассу как сырье для получения сразу двух востребованных рынком продуктов, что существенно снижает себестоимость каждого из них. В экспериментах *in vitro* и *vivo* показано, что интермедиаты синтеза Аст лишь немногим уступают ему по антиоксидантной, противоопухолевой и иммуномодулирующей активности и могут успешно использоваться в тех же областях, что и Аст. Первые клинические испытания предшественников Аст подтверждают результаты лабораторных исследований и являются весомым аргументом в пользу целесообразности поиска их природных источников.

Анализ литературы по этой проблеме показывает, что распространенный способ выбора видов для тестирования их коммерческой перспективности как источников ККар, основанный на весьма полезном, но не всегда достаточном критерии – покраснении старых агаризованных культур, дает весьма неопределенную информацию для формирования стратегии поисковых исследований. Более результативным может оказаться подход, базирующийся на планомерном скрининге близкородственных таксонов, насчитывающих наибольшее число видов с выраженной способностью к вторичному каротиногенезу, с использованием унифицированной схемы двухстадийной накопительной культуры (ДСНК). Этот способ культивирования позволяет в одном эксперименте оценить технологически важные характеристики водорослей: скорость роста, стресс-толерантность к факторам, индуцирующим биосинтез Аст, скорость накопления и состав ККар и липидов и др. При скрининге наземных видов направляющая роль может принадлежать системе почвенных Chlorophyta И.Ю. Костикова, базирующейся на молекулярно-генетической основе и одновременно с этим использующей в качестве фенотипического признака высокого ранга способность микроводорослей к гиперсинтезу Кар. В рамках класса Chlorophyceae эта система четко очерчивает границы поиска порядками, принадлежащими к эволюционным линиям *Chlamydomonas applanata* (Protosiphonales, Volvocales, Chaetophorales) и *Chlamydomonas lobulata* (Scenedesmales). Стратегия скрининга промышленно перспективных видов включает три последовательных этапа, каждый из которых предполагает решение ряда взаимосвязанных задач. I этап – первичный скрининг – предусматривает создание коллекции живых культур продуцентов Аст, сравнительный анализ продукционных характеристик водорослей при выращивании по унифицированной «скрининговой» схеме ДСНК и отбор видов с выходом суммарных Кар около 2 мг/(л·сут). Цель II этапа – оптимизация условий культивирования водорослей, отобранных на I этапе, оценка их максимального продукционного потенциала и возможности управления полнотой трансформации интермедиатов Аст в конечный продукт. III этап – получение экспериментальных образцов биомассы и ККар для передачи в специализированные лаборатории, уполномоченные на осуществление государственного контроля за безопасностью и эффективностью растительного сырья и продуктов его переработки.

## **Роль низкомолекулярных хелаторов в транспорте и аккумуляции металлов в растениях**

*Серегин И.В.*

ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева РАН, 127276, ул. Ботаническая, 35, Москва, Россия,  
тел.: (499) 678-53-24, факс: +7(499) 678-54-20  
[ecolab-ipp@yandex.ru](mailto:ecolab-ipp@yandex.ru)

Одной из ключевых задач современной экологической физиологии растений является изучение механизмов, определяющих избирательное накопление металлов у растений двух контрастных групп: исключателей, у которых металлы накапливаются главным образом в корневой системе, и аккумуляторов, у которых они накапливаются преимущественно в надземных органах. Среди аккумуляторов выделяют особую группу растений гипераккумуляторов. В настоящее время к гипераккумуляторам относят виды растений, содержание цинка (Zn) и марганца (Mn) у которых превышает 1%; содержание никеля (Ni), кобальта (Co), меди (Cu) и селена (Se) превышает 0.1%, а содержание кадмия (Cd) и мышьяка (As) превышает 0.01% от сухой массы побегов. Всего в настоящее время известно около 500 видов гипераккумуляторов из 40 семейств покрытосеменных растений. Большинство видов гипераккумуляторов относится к гипераккумуляторам Ni. Способность к накоплению металлов неоднократно возникала в процессе эволюции не только в разных семействах покрытосеменных растений, но и у разных триб и родов внутри одного семейства. Не только разные виды гипераккумуляторов, но и различные экотипы одного и того же гипераккумулятора могут существенно различаться по способности накапливать металлы и по устойчивости к их токсическому действию. Подобные различия могут быть связаны с эволюцией разных популяций одного вида гипераккумулятора на разных типах почв. Гипераккумуляторы обладают высокой устойчивостью к одному или нескольким металлам и металлоидам. Предполагается, что устойчивость к металлам и способность к гипераккумуляции находятся под независимым генетическим контролем, а гены, определяющие способность к гипераккумуляции и устойчивость не являются видоспецифичными, а скорее по-разному экспрессируются у гипераккумуляторов и исключателей. Вероятно, что механизмы, определяющие высокую устойчивость гипераккумуляторов к металлам, должны были возникнуть раньше в процессе эволюции, чем способность к гипераккумуляции. Высокая устойчивость и способность к гипераккумуляции определяется высокой эффективностью механизмов детоксикации металлов, существенной составляющей которых является связывание металлов с хелаторами, обладающими к ним высоким сродством. Наряду с фитохелатинами и металлотионеинами, важнейшими хелаторами являются гистидин, никотианамин и мугеиновая кислота, которым будет уделено основное внимание в докладе. Будут рассмотрены строение и свойства этих хелаторов, пути их биосинтеза, содержание у растений исключателей и гипераккумуляторов, а также их возможная роль в детоксикации, транспорте и механизмах гипераккумуляции у растений. Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Гранта РФФИ № 15-04-02236, а также Международной научной программы LOCOMET.



**Длительно пролиферирующие эмбрионные культуры *Larix sibirica in vitro* (эмбрионная продуктивность, иммуногистохимическое выявление локализации гормонов и генотипирование)**

**Третьякова И.Н. \*, Пак М.Э. \*, Иваницкая А.С. \*, Ахиярова Г.Р. \*\*, Коробова А.Б. \*\*\*, Садыкова В.С. \*\*\*,  
Рогозин Р.А. \*\*\*\*, Кудоярова Р.А. \*\***

\*ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения РАН»  
Институт леса им. В.Н. Сукачева Сибирского отделения РАН Обособленное подразделение ФИЦ КНЦ СО РАН,  
Красноярск. Академгородок, строение 50/ 28

\*\* ФГБУН Уфимский Институт биологии РАН, Уфа

\*\*\*ФГБУН «НИИНА» имени Г.Ф. Гаузе, Москва, Россия

\*\*\*\* ИБХ РАН им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, Москва, Россия

[culture@ksc.krasn.ru](mailto:culture@ksc.krasn.ru)

Для запуска процесса соматического эмбриогенеза листовницы сибирской вводили незрелые половые зародыши, полученные от свободного опыления и контролируемого самоопыления на среду АИ (<http://www.freepatent.ru/images/patents/5/2456344/patent-2456344.pdf>). В агаризированную среду добавляли регуляторы роста 2.4Д (2 мг/л) и 6-БАП (1 мг/л), L- глутамин (500мг/л), аскорбиновую кислоту (400мг/л).

Переход вегетативных клеток на путь соматического эмбриогенеза сопровождался их удлинением, поляризацией и накоплением ИУК у одного из вытянутых концов. Далее, шло асинхронное деление и образование глобулы соматического зародыша, на базальной стороне которой формировались эмбриональные трубки, слагающие суспензор. Образовывалась эмбрионально-суспензорная масса (ЭСМ), состоящая из эмбриональных глобул зародышей и их суспензоров. В результате примененной технологии было получено 23 пролиферирующих клеточных линий (Кл) от трех деревьев-доноров. Возраст эмбрионных культур составлял от одного года до семи лет. Число глобулярных соматических зародышей у разных Кл линий колебалось от 2000 до 11000 на 1 гр. ЭСМ и не изменялось с возрастом культуры. По данным иммуногистохимического окрашивания, клетки глобул содержали ИУК, зеатин и АБК, которые варьировали у разных линий. Соматические зародыши образовывали полиэмбриональные комплексы, в которых шла их активная мультимпликация через кливаж, почкование и расщепление клеток суспензора, которые проходили ассиметричное деление, формирование глобулы зародыша и новые эмбриональные трубки. Мультимпликация при регулярном субкультивировании через две недели не прекращалась в течение семи лет наблюдений. По данным микросателлитного анализа пролиферирующие клеточные линии листовницы сибирской характеризовались слабой аллельной изменчивостью и у большинства клеточных линий число хромосом оставалось стабильным ( $2n = 24$ ).

При добавлении в питательную среду АИ АБК происходила гистодифференцировка и вызревание соматических зародышей в течение 45 суток. Число вызревших соматических зародышей составило 0-33% у разных Кл. Прорастание соматических зародышей шло на безгормональной среде АИ в течении 14-21 дней. Добавление полипептидов в среду для прорастания стимулировало рост регенерантов и образования корней. Для адаптации регенеранты высаживали в искусственную почву в условиях ростовой камеры, а затем были перенесены в теплицу, а затем в почву лесопитомника, где клонированные сеянцы активно растут в течение четырех лет. Генотипирование сеянцев по микросателлитным локусам показало полное соответствие их дереву-донору. Клонированные генетически стабильны сеянцы можно рекомендовать, как посадочный материал для плантационного выращивания листовницы в Сибири.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 15-04-01427 и финансовой поддержке РФФИ и правительства Красноярского края Красноярского краевого фонда поддержки научной и научно-технической деятельности в рамках научного проекта № 16-44-240509.

## Устные доклады

## **Эффект «прессформинга» в коэволюции растительно-микробных симбиотических систем**

*Андронов Е.Е. , Иголкина А.А., Проворов Н.А.*

ФГБУН «Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии», 196608, ш. Подбельского, 3, г. Пушкин 8,  
г. Санкт-Петербург, Россия  
[eeandr@gmail.com](mailto:eeandr@gmail.com)

Роль растения как организатора почвенного микробиома общепризнана. Однако впечатляющие достижения современных методов высокопроизводительного секвенирования библиотек таксономически значимых, а также функциональных генов в почвенных, ризосферных и эндосферных сообществах микроорганизмов позволяют выявить интересные детали этих процессов. По данным, полученным с использованием высокопроизводительного секвенирования, эволюционной и популяционной статистики, а также молекулярного моделирования будет продемонстрировано, что растение является одним из самых мощных факторов, формирующих «генетический пейзаж» почвенных микробиомов. Наиболее ярко эти закономерности проявляются в эволюции тесно интегрированных симбиотических систем, таких как бобово-ризобийный симбиоз. Анализ данных, полученных при исследовании почвенных и ризосферных сообществ, демонстрирует интересный эффект, названный нами «эволюционным прессформингом». Данный эффект заключается в «синхронизации» популяционных разнообразий симбиотически взаимодействующих партнеров таким образом, что разнообразие более быстро эволюционирующего партнера «запрессовывается» в матрицу, сформированную медленно эволюционирующим симбионтом. Особенно ярко данный эффект может быть продемонстрирован при исследовании разнообразия компонентов сигнальных систем – генов, кодирующих растительные рецепторы Nod-фактора, и ризобийных генов, ответственных за синтез Nod-фактора. Мы полагаем, что описанный нами эффект может расширить дискуссию об эволюционных стратегиях в симбиотических и паразитарных системах, для описания которых ранее были описаны эффекты the Red Queen и the Red King, трактующие эволюционные стратегии в терминах скоростей эволюции. Вполне возможно, что агробιοтехнологии, вооруженные пониманием естественных эволюционных механизмов, могли бы сделать существенный вклад в развитие эффективного и устойчивого сельскохозяйственного производства.

Работа поддержана грантом РФФИ № 14-26-00094

## **Донорно-акцепторные отношения при использовании продуктов фотосинтеза на ранних этапах онтогенеза злаковых**

*Ахтемова Г.А., Баташева С.Н., Блохин В.И., Чиков В.И.*

ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН, Казань, 420111. Ул. Лобачевского, д. 2/31. Россия. Тел. (843)231-90-46.  
[guzel1687@mail.ru](mailto:guzel1687@mail.ru)

Исследование продукционных процессов растений в основном проводится в период формирования урожая, когда наиболее выражены донорно-акцепторные отношения между фотосинтезом и потребляющими ассимиляты органами. На начальном этапе онтогенеза сельскохозяйственных растений интересы исследователей обычно сводятся к достижению необходимого количества всходов и засухоустойчивостью. Но и в этом направлении работы ограничиваются морфометрией и визуальными наблюдениями за опытными растениями.

Используя контрастные по развитию продукционного процесса формы растений ячменя (60-08 – многорядный, интенсивного типа развития, но с более длительной вегетацией и двурядный новый сорт Камашевский (*Hordéum vulgáre L.*), который характеризуется как засухоустойчивый, с коротким периодом вегетации), нами показаны особенности развития соотношения корня/листья в период до кушения и распределения  $^{14}\text{C}$ -ассимилятов из верхнего листа по органам растения в период трубкования.

Перед началом кушения (третий лист) 60-08 отставал от сорта Камашевский по развитию корневой системы. Соотношение массы листа/корни у последнего было в два раза меньше при отсутствии различий по общей массе растений. Этот процесс был связан с повышенной активностью внеклеточной инвертазы в корнях у сорта Камашевский, что, вероятно, способствовало увеличению акцептирующей активности корней при использовании свежих продуктов фотосинтеза. Показано влияние удаления одного из листьев, подкормки мочевиной или нитратом кальция на ростовые процессы в корнях и листьях растений.

Опыты с меченым  $^{14}\text{C}$ -углеродом показали большое преимущество сорта Камашевский в интенсивности использования продуктов фотосинтеза на формирование колоса внутри стебля в фазе трубкования. Важно, что у сорта Камашевский высокая акцептирующая активность формирующегося колоса достигалась не только за счет его большего размера в день опыта, но и за счет повышенной акцептирующей активности единицы сухого веса тканей колоса. Включение  $^{14}\text{C}$  в ткани колоса внутри стебля на единицу сухого веса у Камашевского было в пять раз больше чем у морфотипа 60-08.

Анализ распределения  $^{14}\text{C}$  среди различных по растворимости фракций веществ (низкомолекулярные, водо- и щелочерастворимые, а также извлекаемые Трито-Х100, крахмал и целлюлоза) также показал большое различие в фазу трубкования между исследуемыми типами ячменя. Последнее позволяет заключить, что различия между объектами имеет генетически предопределенные особенности метаболизма.

## Бобово-ризобияльный симбиоз: что выбирают растения?

*Баймиев Ан.Х., Гуменко Р.С., Акимова Е.С., Владимирова А.А., Саргалиева Г.М., Баймиев Ал.Х.*

ФГБУН Институте биохимии и генетики УНЦ РАН, 450054, просп. Октября, 71, Уфа, Россия.  
[baymiev@anrb.ru](mailto:baymiev@anrb.ru)

Клубеньковые бактерии или ризобии – гетерогенная группа микроорганизмов, способная к образованию азотфиксирующего симбиоза с бобовыми растениями с формированием специализированных структур на их корнях, клубеньков, внутри которых и происходит процесс фиксации азота. В настоящее время к данной группе причисляют более чем 98 видов бактерий, сгруппированных в 13 родов, принадлежащих к  $\alpha$ -протеобактериям (*Rhizobium*, *Mezorhizobium*, *Ensifer*, *Bradyrhizobium*, *Phyllobacterium*, *Microvirga*, *Azorhizobium*, *Ochrhobactrum*, *Methylobacterium*, *Devosia*, *Shinela*), и  $\beta$ -протеобактериям (*Burkholderia*, *Cupriavidus* (*Ralstonia*)) (Berada, Fikri-Benbrahim, 2014). Клубеньковым бактериям характерно две формы существования, первая это сапрофитная, при котором данные бактерии являются свободноживущими почвенными микроорганизмами, и вторая – это симбиотическая, во время которой бактерии клонально размножаются в клубеньках растений. Для успешного симбиотического взаимодействия клубеньковые бактерии в составе генома должны содержать *sym*-гены, продукты которых участвуют в различных стадиях взаимоотношения бактерии и растения. В сапрофитном состоянии бактерий симбиотические гены являются своего рода генетическим «балластом», потеря которых лишь увеличивает конкурентоспособность бактериальных клеток. Напротив, для образования симбиоза наличие их является обязательным условием. Поэтому для клубеньковых бактерий характерно постоянная потеря/приобретение симбиотических генов. В данном процессе непосредственное участие принимает растение-хозяин, который увеличивает в прикорневой зоне пул бактерий, имеющих симбиотические гены за счет их клонального размножения в клубеньках и дальнейшего их выхода при отмирании данных структур. В свою очередь, данные *sym*<sup>+</sup> бактерии выступают с одной стороны агентами, способными как к образованию симбиоза со своим растением хозяином, с другой – донорами *sym*-генов, а при потере симбиотических генов могут перейти в сапрофитный образ существования. Постоянные процессы «инфекций и освобождений» (ИО-циклы) (Проворов, Воробьев, 2012) сопряженные с потерей и приобретений *sym*-генов требует от клубеньковых бактерий высокой рекомбинационной активности. Как бы то ни было, высокая рекомбинационная активность непременно сказывается на гетерогенности популяции данных бактерий. Для ризобий индексы гетерогенности на самом деле одни из самых высоких среди бактерий (Проворов, Воробьев, 2012). Каждый цикл инфекции растение должно проводить выбор генотипов бактерий, с которыми произойдет взаимодействие. Нами для выяснения, закономерностей выбора растениями генотипов бактерий были проведены исследования генетического разнообразия и филогении клубеньковых бактерий дикорастущих бобовых растений, произрастающих без антропологического воздействия, для выявления устоявшихся симбиотических связей за очень продолжительное время. Было обнаружено, что с одним растением часто взаимодействуют филогенетически неоднородные по гену 16S рРНК бактерии. На филогенетическом древе можно увидеть значительные расстояния между ними, а в некоторых случаях бактерии даже принадлежат к разным таксонам. При филогенетическом же анализе симбиотических генов (*nodC*, *nifH*) обнаруживается почти полная их идентичность у микросимбионтов одного растения, даже у бактерий, принадлежащих к разным таксономическим группам. Вероятно, что симбиотические гены ими были получены путем горизонтального переноса, что и придало им способность к симбиотическому взаимодействию с бобовым растением. Подобные случаи не являются редким явлением. Вероятнее всего для растения не выгодно клональное размножение одного штамма клубеньковой бактерии в ризосфере, поскольку это чревато тем, что при некотором эдафическом стрессе они могут все исчезнуть, и растение может остаться ни с чем. В этой связи гетерогенность штаммов клубеньковых бактерий для растений наиболее выигрышна, но при условии, что они будут содержать определенный набор подходящих для данного растения *sym*-генов. И растение активно участвует в селекции и формировании данного генетического набора, вступая в симбиоз только с бактериями, имеющими фенотип, определяемый этими генами и клонально их размножая в клубеньках. По сути, растения концентрируют в своей ризосфере определенные группы симбиотических генов, наиболее подходящих для детерминирования наиболее выгодного для себя фенотипа у бактерий. В данном случае сама бактерия большого значения не имеет и специфичность по отношению к видам бобовых растений у штаммов ризобий определяется их способностью стабильно реализовывать генетическую информацию определенных наборов *sym*-генов. Этим, скорее всего, объясняется довольно частое образование нетипичных штаммов клубеньковых бактерий за счет горизонтального переноса генов, обнаруживаемых нами и другими исследователями в клубеньках бобовых растений. По нашим данным подобные образования отличаются крайне низкой стабильностью и на искусственной среде теряют свои симбиотические гены в течение двух-трех пассажей. Таким образом, можно предположить, что эволюция и комбинация симбиотических генов в *sym*-кластере у клубеньковых бактерий происходит под непосредственным контролем растения-хозяина.

## **Эффекты слабых магнитных полей на растительную клетку: морфология, ультраструктура, цитоскелет**

*Баранова Е.Н., Гулевич А.А., Лазарева Е.М., Баранова Г.Б.*

ФГБУН Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии.  
Тимирязевская ул., 42, Москва, Россия  
[greenpro2007@rambler.ru](mailto:greenpro2007@rambler.ru)

Сформированное около 3,2 миллиарда лет назад в палеоархее постоянное магнитное поле (ПМП) Земли явилось одним из определяющих факторов среды, обеспечивших появление и формирование жизни на нашей планете. Предоставив биосфере своеобразный защитный экран от разных видов ионизирующего и электромагнитного излучения космического происхождения, ПМП незаметно сопровождает все этапы онтогенеза всех живых систем. Несмотря на этот факт и множество накопленных наблюдений влияния ПМП на рост и развитие растений, оно остается одним из наименее изученных абиотических факторов среды. Это объясняется сложностью в постановках экспериментов, естественными флуктуациями и неочевидностью мишени воздействия. Между тем, все эти недостатки можно отнести к любому абиотическому фактору физической природы (температуре, давлению, газовому составу, влажности, электромагнитным и ионизирующим воздействиям, радиации и т.п.). В связи со сложностью изучения и понимания процесса магниточувствительности, в отличие от большинства абиотических факторов до настоящего времени не определены нижние и верхние пределы устойчивости, зоны оптимума и стресса, и отсутствуют данные о различиях в устойчивости у различных видов. Большим успехом является установление самого факта магниточувствительности у растений, который выражается в выявлении разных типов магнитоориентированных растений, ряда магнитогравитационных эффектов, обнаружении влияния магнитного поля на рост и развитие растений на разных этапах онтогенеза и, соответственно, на ряд биохимических и физиологических параметров, а также экспрессию ряда генов.

Целью нашей работы было выявить субклеточные мишени, чувствительные к действию ПМП, путем его «увеличения» с помощью постоянных магнитов или «уменьшения» с помощью сферических ферромагнитных экранов. Несмотря на то, что мы не использовали сублетальные параметры, а работали в диапазоне слабых магнитных полей, нам удалось обнаружить ряд очевидных мишеней влияния ПМП на разных уровнях ультраструктурной организации ядра, цитоскелета и вакуолярной системы. В связи с тем, что для магнитобиологических эффектов характерен низкий уровень воспроизводимости, кратность экспериментов была увеличена по сравнению с обычными исследованиями (количество повторов увеличено в три-четыре раза). Для выявления и подтверждения установленных эффектов оптимальным оказалось использование двухфакторной модели. В качестве второго фактора использовался хорошо изученный и легко моделируемый стрессор – низкие положительные температуры. В связи с чем мы выбрали классические модели (озимые злаки), для физиологии которых характерно протекание длительного периода яровизации в соответствующих условиях (от 0° до +4°С). В соответствии с литературными данными можно было предполагать, что, так же как и при воздействии других стрессовых факторов, изменения затронут все системы (мы предполагали установить изменение структуры хроматина и конденсации ДНК в ядре, пластидах и митохондриях, изменение мембранных компартментов). На структурном уровне различия соответствовали предположениям. Отмечено изменение конденсации хроматина, организации ядрышка, нарушение цитоскелета как в интерфазе, так и в митозе. Установлены различия в формировании вакуолярного компартмента, в количестве и локализации запасных веществ. Если экранирование ПМП вызывало уменьшение плотности упаковки хроматина (деконденсацию), то воздействие постоянного магнита вызывало усиление конденсации. При использовании второго фактора (холода) наблюдаемый эффект усиливался, приводя к полной деконденсации хроматина в интерфазных клетках корня через месяц после одновременного воздействия низкой температуры и применения сферического экрана. Мы предполагаем, что ПМП усиливало осмотический и окислительный стресс при низких температурах, в то время как экран, напротив, ослаблял повреждающий эффект стрессов. Изменение формы клеток и процесс формирования вакуолей наиболее четко идентифицировались в клетках коры корня и перидикле, хотя наблюдались также и в эпидермисе и клетках стелы. Наибольший интерес представляет то, что упаковка хроматина нарушалась не только в ядрах интерфазных клеток, но и в митотических хромосомах (при экранировании они имели диаметр в 2,5-3 раза больше, чем в контроле), что, вероятно, вызвано изменениями свойств цитоплазмы. Мы полагаем, что это может быть связано с эпигенетической регуляцией, так как было установлено, что обнаруженные нами изменения являлись обратимыми, и при «снятии» воздействия не вызывали значительных изменений ни в сроках развития, ни в прохождении этапов онтогенеза. Это соответствует большому объему экспериментальных данных, описанных в литературных источниках. Выявленные нами изменения подтверждают, что, как и другие абиотические факторы среды, ПМП оказывает эффект на физиолого-биохимические параметры и структурную организацию клеток растений, и может значительно влиять на показатели экспериментов. По результатам данной работы становится очевидным необходимость учитывать и контролировать параметры ПМП при исследовании влияния различных факторов как абиотической, так и биотической природы на растительные организмы.

## Роль симбиотических микроорганизмов в устойчивости *Pisum sativum* L. к абиотическим стрессам.

*Белимов А.А.\**, *Пухальский Я.В.\**, *Шапошников А.И.\**, *Азарова Т.С.\**, *Макарова Н.М.\**, *Сафронова В.И.\**,  
*Носиков В.В.\*\**, *Литвинский В.А.\*\**, *Завалин А.А.\*\**, *Вишнякова М.А.\*\*\**, *Семенова Е.В.\*\*\**, *Косарева*  
*И.А.\*\*\**, *Тихонович И.А.\*\*\*\*\**

- \* Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, ш. Подбельского, 3, Пушкин, Санкт-Петербург, Россия;  
\*\* Всероссийский научно-исследовательский институт агрохимии им. Д.Н. Прянишникова, ул. Прянишникова, 31а, Москва Россия;  
\*\*\* Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, ул. Большая Морская, 42-44, Санкт-Петербург, Россия;  
\*\*\*\* Санкт-Петербургский государственный университет, Университетская наб., 7/9, Санкт-Петербург. Россия.  
[belimov@rambler.ru](mailto:belimov@rambler.ru)

К числу самых распространенных и опасных абиотических стрессовых факторов относятся засуха, повышенная кислотность почвы в совокупности с токсичностью алюминия и загрязнение почв тяжелыми металлами, вызванные соответственно природными и антропогенными воздействиями на агроландшафты. В зоне жизнедеятельности корней (ризосфере) растения вступают в симбиотрофные отношения с различными микроорганизмами, многие из которых участвуют в адаптации растений к неблагоприятным условиям окружающей среды и существуют благодаря питательным ресурсам растительного происхождения. Механизмы этих взаимоотношений разнообразны, сложны и включают в себя фиксацию атмосферного азота, продукцию или деструкцию фитогормонов и других биологически активных веществ, мобилизацию и иммобилизацию питательных и токсичных элементов, регуляцию корневой экссудации, биоконтроль фитопатогенов и другие менее изученные процессы. Благодаря этому растения и микроорганизмы совместно эволюционируют, образуя высоко интегрированные и устойчивые к стрессам системы. Важную роль в таких системах играют бобовые растения, которые образуют несколько типов симбиоза с различными микроорганизмами, такими как эндомикоризные грибы, клубеньковые бактерии и ассоциативные бактерии.

Целью нашей работы являлось изучение внутривидового биоразнообразия, механизмов устойчивости к абиотическим стрессам и процессов интеграции с симбиотическими микроорганизмами у гороха посевного (*Pisum sativum* L). В результате исследований выявлен высокий полиморфизм гороха по признакам устойчивости к токсичным концентрациям кадмия и алюминия, а также аккумуляции тяжелых металлов (Cd, Co, Cu, Cr, Hg, Ni, Pb, Sr и Zn) из загрязненной почвы. Впервые установлено, что чувствительные к Cd генотипы растений гороха более эффективно взаимодействуют с эндомикоризными грибами, которые защищают растения от негативного действия токсиканта. При недостаточном увлажнении почвы инокуляция гороха эффективным штаммом ризобий *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* или ассоциативной бактерией *Variovorax paradoxus* с АЦК-деаминазной активностью улучшала рост растений и образование симбиотических клубеньков, в то время как мутанты по АЦК деаминазе не обладали ростстимулирующим действием. Инокуляция комплексом симбиотических микроорганизмов (эндомикоризный гриб *Glomus* sp., клубеньковая бактерия *R. leguminosarum* bv. *viciae* и ассоциативная бактерия *V. paradoxus*) улучшала рост растений при обогащении почвы Cd и Co. Интенсивность образования микоризных структур на инокулированных корнях гороха была в несколько раз выше, чем на неинокулированных. На корнях устойчивого к Cd и Co мутанта гороха *SGECd<sup>f</sup>* количество и биомасса клубеньков, а также активность азотфиксации в фазу цветения, были больше, чем у растений дикого типа. Вынос Cd и Co из почвы растениями *SGECd<sup>f</sup>* также повышался в вариантах с инокуляцией микроорганизмами. Результаты показали, что генотипы гороха различаются по механизмам устойчивости к алюминию, такими как предотвращение поступления алюминия в корень и его транспорт в побег, перевод алюминия в нерастворимые соединения и поддержание гомеостаза питательных элементов в корнях и побегах. Было установлено, что чем устойчивее генотип, тем меньше процентное изменение в содержании питательных элементов, вызванных обработкой алюминием и такие корреляции были значимыми для Ca, Co, Cr, K, Mg, Mn, Ni и Zn. В этих процессах принимают участие ризосферные бактерии, действие которых обусловлено корневой экссудацией органических соединений и приводит к повышению устойчивости растений к стрессу. Бактерии способны не только утилизировать компоненты корневых экссудатов, но и усиливать корневую экссудацию и(или) продуцировать некоторые органические вещества при взаимодействии с растениями.

Работа поддержана грантами РФФИ (12-04-01501, 15-04-09023) и РФФ (14-16-00137; 16-16-00080; 14-26-00094).

## Жизнь при постоянном стрессе. Биологические свойства растений картофеля, трансформированного геном глюкозооксидазы

*Боровский Г.Б.\**, *Грабельных О.И.\**, *Боровик О.А.\**, *Гамбург К.З.\**, *Любушкина И.В.\**, *Степанов А.В.\**,  
*Федяева А.В.\**, *Федосеева И.В.\**, *Рихванов Е.Г.\**, *Савчин Д.В.\*\**, *Урбанович О.Ю.\*\**

\*Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН. Лермонтова ул., 132, Иркутск, Россия;

\*\*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси. Академическая ул., 27, Минск, Беларусь.

[borovskii@sifibr.irk.ru](mailto:borovskii@sifibr.irk.ru)

Пероксид водорода является сигнальной молекулой и от уровня повышения его содержания при стрессе зависит развитие реакции организма и последующая адаптация либо гибель клетки. Введение и экспрессия в растительном геноме гетерологичного гена *gox*, который кодирует фермент глюкозооксидазу, приводит к постоянному повышенному содержанию пероксида водорода в тканях растения. Предполагается, что это может повысить защитные свойства растений без изменения других ценных признаков сельскохозяйственных культур. Созданные трансгенные формы растений с геном глюкозооксидазы проявляют повышенный уровень устойчивости к широкому ряду грибных и бактериальных фитопатогенов. На основании явления кросс-толерантности, можно также ожидать и повышения устойчивости к абиотическим факторам среды, однако вопрос этот изучен недостаточно полно. Неясно также как постоянно повышенный уровень сигнальных молекул отражается на свойствах растения в комфортной ситуации и способности реагировать на неблагоприятное изменение среды.

Трансгенные растения картофеля получали методом агробактериальной трансформации векторными конструкциями, несущими нативный или модифицированный для более эффективной работы в растениях ген глюкозооксидазы *Penicillium funiculosum* под контролем конститутивного промотора. Растения, прошедшие отбор и проверенные на активность трансгена, демонстрировали повышенный уровень содержания пероксида водорода в тканях и повышенную устойчивость к поражению фитотрофом. Отрезки стеблей пробирочных растений с активной экспрессией гена глюкозооксидазы подавляли размножение бактерий *Esherichia coli* и *Pectobacterium carotovorum*. Клубни трансформированных растений раньше контрольных выходили из состояния покоя. Растения с наиболее активной глюкозооксидазой имели меньшую высоту за счет уменьшения длины междоузлий. Количество клубней у трансформированных растений увеличивалось, а средний вес клубня незначительно снижался. Микроскопический анализ показал преимущественную локализацию повышенного содержания активных форм кислорода (АФК) в тканях проводящих пучков стебля растений. С помощью пробирочных растений, полученных из линий картофеля с сильной или слабой активностью глюкозооксидазы, а также контрольного картофеля, оценивали влияние повышенного содержания пероксида водорода на устойчивость к неблагоприятной температуре. Устойчивость растений к низкотемпературному воздействию (1 °С, 10 сут) у линий с высокой активностью глюкозооксидазы была выше, чем у линий с низкой активностью или нетрансформированных растений. Противоположная картина наблюдалась при действии неблагоприятной высокой температуры. Трансформанты, содержащие ген глюкозооксидазы, оказались более чувствительны к жесткому температурному шоку (50 °С, 90 мин), чем нетрансформированные растения. Предварительный прогрев растений (37 °С, 2 ч) существенно ослаблял повреждающее действие жесткого теплового шока. Это ослабление было наиболее значительным у нетрансформированных растений и меньшим у растений с высокой активностью глюкозооксидазы. Повреждение и отмирание растений после прогрева при 50 °С развивалось постепенно. Это позволяет предположить, что оно происходит по типу программируемой клеточной гибели. Анализ содержания БТШ у контрольных и трансгенных растений картофеля при стрессе и при комфортной температуре не выявил выраженной активации накопления этих стрессовых белков при повышенном содержании пероксида водорода. Сделано предварительное заключение об отсутствии кросс-толерантности у картофеля в отношении действия высокой и низкой положительной температуры и, вероятно, разных основных повреждающих факторов при этих воздействиях.

В целом наши данные показывают, что повышенный уровень содержания сигнальной молекулы стресса пероксида водорода не приводит к развитию общей неспецифической устойчивости растений. Устойчивость к гипертермии даже снижается. Высокий уровень АФК в модифицированном картофеле вызывает рост устойчивости к окислительному стрессу, который сопровождает неблагоприятное действие низкой положительной температуры. Кроме того, это также способствует устойчивости таких растений к микроорганизмам, вероятно вследствие прямого действия пероксида водорода, как антимикробного агента. Жизнь «при постоянном стрессе» не привела к перманентной устойчивости клеток.

Благодарности: работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ №16-54-00070 и БРФФИ Б16Р-050.



## **Мезоструктура и функциональная активность фотосинтетического аппарата сортов риса интенсивного и экстенсивного типа: поиск способов интенсификации фотосинтеза альтернативных $C_4$ трансгенезу**

*Бурундукова О.Л., Холупенко И.П.*

Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии. Пр. Столетия 159, Владивосток, Россия  
[burundukova.olga@gmail.com](mailto:burundukova.olga@gmail.com)

Создание NPT (New Plant Type) сортов риса, или сортов интенсивного морфотипа, отличающихся низкорослостью и гигантской продуктивностью метелки, привело к существенным диспропорциям структуры донорно-акцепторной системы. Прежде всего, это проявляется в формировании шуплого, «недоналитого» зерна. Сотрудники международного института риса (IRRI) пришли к заключению, что урожай NPT сортов лимитирует фотосинтез, и выдвинули предположение о том, что фотосинтез риса может быть повышен посредством замены исходного  $C_3$  типа на более продуктивный  $C_4$  тип. В течение последних 10-15 лет были предприняты различные попытки переноса признаков  $C_4$  фотосинтеза на  $C_3$  растения, но положительное влияние на фотосинтез экспрессии отдельных  $C_4$  ферментов или их комбинаций на сегодняшний день у риса и других  $C_3$  видов не зарегистрировано. Попытки создания в трансгенном рисе мини  $C_4$  цикла в одной клетке показали, что введение только основного ферментативного  $C_4$  цикла без добавления остальных частей  $C_4$  фотосинтетической системы, например, клеточной компартментализации и транспортных систем, не достаточно, чтобы увеличить фотосинтез  $C_3$  культуры. Поиск альтернативных путей повышения интенсивности фотосинтеза NPT сортов риса остается актуальной задачей.

В Приморье интенсивные сорта первой генерации были получены в 90 годы. Негативные признаки интенсивного морфотипа у приморских сортов были выражены еще в большей степени чем у сортов IRRI, поскольку Приморье является зоной северного рисосеяния.  $C_4$  фотосинтез в условиях прохладного климата менее эффективен. Целью работы было оценить возможность повышения фотосинтеза риса на базе исходного  $C_3$  типа, посредством совершенствования структурно-функциональной организации фотосинтетического аппарата на уровне мезоструктуры листа. Известно, что улучшение структурно-функциональной организации фотосинтеза имеет перспективу, в тех случаях, когда существует генетическое разнообразие по скорости фиксации  $CO_2$  и высокая корреляция интенсивности фотосинтеза и характеристик мезоструктуры листа. В задачу входило исследование изменчивости и корреляционной взаимосвязи интенсивности фотосинтеза и структуры фотосинтетического аппарата в коллекции сортов риса интенсивного и экстенсивного морфотипа разного географического происхождения (Япония, Китай, Корея, Краснодарский край, Узбекистан, Приморье). Коллекцию сортов риса (50 сортов) выращивали в условиях мелкоделяночного полевого опыта (с.Новосельское, Приморский край). Фотосинтез определяли радиометрическим методом в полевых и лабораторных условиях. Количественные показатели структуры фотосинтетического аппарата определяли по методу А.Т. Мокроносова (1978). Объем и поверхность клеток мезофилла сложной формы вычисляли с использованием специально разработанной для риса программы «CELLSTAT».

Исследования показали, что интенсивность фотосинтеза единицы листовой поверхности в исследуемой коллекции варьировала от 55 до 75 мг.  $CO_2$  /кв. см час в полевых условиях, и в пределах 20-40 мг.  $CO_2$  /кв. см час при измерении в условиях лаборатории. Коэффициент вариации составил 17-19 %. Максимальные величины интенсивности потенциального фотосинтеза были получены у интенсивных сортов Китая, Узбекистана, Краснодарского края минимальные у экстенсивных сортов Приморья и Японии. Сорта риса разного географического происхождения различаются по комплексу структурно-функциональных характеристик листа. Высокие коэффициенты вариации (18-20%) наблюдали у признаков мезоструктуры листа –ИМК, ИМХ, содержание хлорофилла, число хлоропластов в единице площади листа. По этим показателям сорта интенсивного морфотипа достоверно превосходили сорта экстенсивного морфотипа. Корреляционный анализ показал, что из рассмотренных структурно-функциональных характеристик высоко коррелируют с интенсивностью фотосинтеза такие признаки, как – индекс мембран клеток ( $K=0,8$ ), и индекс мембран хлоропластов ( $K=0,7$ ), количество хлоропластов в расчете на единицу площади листа ( $K=0,69$ ). Отсутствие корреляции с числом устьиц на верхней и нижней стороне листа подтверждает литературные данные о том, что устьичное сопротивление не лимитирует фотосинтез риса.

Таким образом, исследования показали значительное разнообразие структурно-функциональной организации листа сортов риса разного географического происхождения, что свидетельствует о существовании селекционного материала для отбора и скрещивания. Выявлены признаки, высоко коррелирующие с интенсивностью фотосинтеза, которые можно рекомендовать для использования в качестве тестов при отборе. Мы считаем, что существует альтернативный  $C_4$  трансгенезу путь повышения фотосинтеза риса на базе  $C_3$  типа, даже на уровне мезоструктуры листа, связанный с совершенствованием структурно-функциональной организацией фотосинтетического аппарата - увеличением внутренней ассимиляционной поверхности и повышением количества хлоропластов в расчете на единицу площади листа.

**Разнообразие культивируемых эндофитных бактерий гороха посевного (*Pisum sativum* L)****Васильева Е.Н. \*, Афонин А.М. \*\*, Ахтемова Г.А. \*\*, Жуков В.А. \*\*, Борисов А.Ю. \*\*, Тихонович И.А. \*\***

\*Санкт-Петербургский Государственный Университет, Университетская наб. 7-9, 199034, г. Санкт-Петербург, Россия

\*\*ФГБУН ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, ш. Подбельского, д. 3, 196608, Санкт-Петербург-Пушкин, Россия  
[grayman616@gmail.com](mailto:grayman616@gmail.com)

Растения семейства Бобовые (*Fabaceae*) взаимодействуют с разнообразными группами полезных микроорганизмов, образуя три типа мутуалистических симбиозов: 1) азотфиксирующий симбиоз с клубеньковыми бактериями, 2) симбиоз с грибами арбускулярной микоризы, и 3) широкий спектр ассоциативных симбиозов с различными бактериями из группы PGPR (*Plant Growth-Promoting Rhizobacteria*). Современные технологии генетики и микробиологии позволяют исследовать организмы (грибы, бактерии, водоросли), населяющие межклеточное пространство растений и не вызывающие негативных последствий для них, выступая, таким образом, в роли эндосимбионтов. Особый интерес представляют так называемые эндофитные бактерии, которые способны положительно влиять на рост и развитие растительного организма, улучшать его снабжение необходимыми питательными веществами, увеличивать устойчивость к стрессорным факторам среды и модулировать уровень гормонов. Кроме того, такие организмы способны продуцировать сидерофоры и витамины, что повышает иммунитет растения и резистентность к патогенам.

В настоящее время всего несколько видов растений достаточно полно изучены в отношении содержания в них бактерий-эндофитов.

Цель данной работы: изучить состав и разнообразие бактериальных эндофитов различных генотипов гороха посевного (*Pisum sativum* L.).

Для эксперимента были выбраны три генотипа гороха посевного - (К-8274 – высокоэффективный и К-3358 – низкоэффективный при взаимодействии с полезной почвенной микрофлорой, а также коммерческий селекционный сорт «Триумф», созданный на базе ФГБУН ВНИИЗБК и являющийся потомком К-8274, унаследовавшим признак высокой эффективности взаимодействия с почвенными микроорганизмами) Растения были выращены в вегетационных условиях, на сроке 4 недели из них выделили эндофитов.

С поверхности растений гороха были выделены эпифитные бактерии. Затем проводили трехступенчатую поверхностную стерилизацию спиртом и гипохлоритом натрия и выделяли эндофитные бактерии из стеблей и листьев растений гороха. Бактерии выделяли на твердых питательных средах: TSA, 1/20 TSA (триптон- соевый агар) и № 79 (селективная среда для выделения симбиотических бактерий из семейства *Rhizobiaceae*).

Таксономическую принадлежность выделенных штаммов определяли с помощью секвенирования диагностического фрагмента V3-V12 гена 16S рРНК. Выделение бактериальной ДНК производилось по модифицированному фенол-хлороформному протоколу.

Всего было выделено 236 морфологически различных культивируемых штаммов бактерий (121 штамм эндофитов и 115 штаммов эпифитов). Обнаружено, что во всех генотипах гороха присутствуют бактерии из рода *Bacillus*.

В листьях растений гороха генотипа К-8274 выявлены бактерии из родов *Serratia*, *Rahnella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Microbacterium*, *Acinetobacter* (причем доминируют бактерии из рода *Serratia* и *Bacillus*). На поверхности листьев К-8274 обитают бактерии из родов *Pseudomonas* и *Rhizobium*.

Эндосфера стеблей генотипа К-3358 населена бактериями из родов *Pseudomonas*, *Rahnella* и *Enterobacter* с доминированием вида *Rahnella aquatilis*. Из листьев выделены бактерии из родов *Acinetobacter* и *Bacillus*.

Стебли гороха сорта «Триумф» населяют эндофитные бактерии из родов *Bacillus*, *Serratia*, *Staphylococcus* и *Rahnella*. В листьях гороха «Триумф» обнаружены эндофиты, относящиеся к родам *Enterobacter*, *Micrococcus*, *Rahnella* и *Bacillus*, а на листьях и стеблях гороха обитают бактерии из родов *Rhizobium* и *Sphingomonas*.

В результате работы описаны культивируемые бактерии, входящие в состав микробного сообщества (микробиома) растений гороха посевного (*Pisum sativum* L.). Наблюдаемые различия в составе бактериального эндофитного сообщества у исследованных генотипов гороха могут отражать влияние генетического фона растения, в том числе проявление признака высокой симбиотической эффективности.

Работа поддержана грантом РФФИ 16-04-01859\_a, РФФИ 16-16-00118 и Советом по грантам Президента РФ НШ-6759.2016.4.

**Пост-криогенная реакция генплазмы растений на показатели устойчивости, жизнеспособности и продуктивности**  
**post-cryogenic response of plant germplasm to the parameters of resistance, viability and productivity**

*Вержук В.Г. \*, Павлов А.В. \*, Мурашев С.В. \*\*\**

\* ФИЦ ФГБУН Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И.Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург, Россия  
[vverzhuk@mail.ru](mailto:vverzhuk@mail.ru)

\*\* Университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия  
[s.murashev@mail.ru](mailto:s.murashev@mail.ru)

В основе достижений по криоконсервации живых организмов лежат работы исследователей, изучавших сложные клеточные системы, изменяющиеся под влиянием охлаждения, льдообразования и эффектов, сопровождающих эти процессы. Устойчивость к криоконсервации зависит от способности к восстановлению клеточных мембран после оттаивания и условий регидратации. При проведении исследований по криоконсервации генплазмы растений в виде побегов, почек, меристем и пыльцы за основу взят метод, разработанный Форслайном для спящих почек яблони, который мы модифицировали для криоконсервации других плодовых культур, таких как груша, вишня, слива, черешня, черемуха, жимолость, виноград, айва и т.д. В процессе работы нами определены различные показатели жизнедеятельности растений данных культур, такие как их жизнеспособность, устойчивость к эколого-географическим и климатическим условиям среды, в которых они росли после криохранения, а при получении на ветках из криоконсервированных черенков плодовой продукции - оценивали показатели их продуктивности на плодах. Перед закладкой на криохранение одногодичные черенки нарезали в зимний период (декабрь) в коллекционных садах ВИР, затем подсушивали при  $-4^{\circ}$ - $5^{\circ}$ С, до остаточной влажности 28 - 32% в растительной ткани черенков и почек, после чего постепенно замораживали в приборах замораживателях до  $-80^{\circ}$ - $90^{\circ}$ С и погружали в пары жидкого азота на длительное хранение. После подсушивания в бумажных пакетиках пыльцу замораживали прямым погружением в жидкий азот, а почки перед закладкой на хранение предварительно обрабатывали криопротекторами. В весенний период, после 6-8 месяцев хранения черенки и почки размораживали и прививали на ветви взрослых деревьев, а пыльцой при цветении опыляли цветки. Черенки таких культур как виноград, смородина, крыжовник, жимолость, черемуха высаживали непосредственно в почву. По полученным данным можно отметить, что жизнеспособность привитых черенков и почек выявила зависимость ее от сохраняемого конкретного сорта и экологической зоны произрастания (откуда был взят черенок) и ее значения колебались в пределах от 35 до 87%. Проведение различных вариантов опыления, сохраняемой в азоте пыльцой черной смородины, показало, что ее жизнеспособность по сравнению с исходной увеличилась и завязываемость ягод при скрещивании сортов составляла 94-100%. Анализ биохимического состава плодов яблони и груши, полученных на привитых черенках после криохранения, подтвердил сохранность биохимических и вкусовых качеств плодов, не отличаемых от контрольных. Оценка устойчивости от болезней и вредителей привитых черенков и почек на деревья в период вегетации, а также 4-х летних кустов смородины и крыжовника показала, что эти растения выросли более здоровыми и менее подвергнуты различным заболеваниям. В заключении необходимо отметить, что длительное сохранение генплазмы растений в виде (черенков, почек, пыльцы, меристем) при сверхнизкой температуре паров жидкого азота дает возможность восстанавливать необходимые сорта плодовых и ягодных культур в живом виде в случае потери.

**Агглютинины в биоинженерии искусственных симбиотических систем****Вершинина З.Р., Хакимова Л.Р., Лавина А.М., Сербаяева Э.Р., Баймиев Ал.Х.**ФГБУН Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН. Проспект октября 71, Уфа  
[zilyaver@mail.ru](mailto:zilyaver@mail.ru)

Для конструирования новых ассоциативных симбиотических систем применяются различные методы, в том числе и создание трансгенных растений, которые вырабатывают в корнях специфические вещества, определяющие стадию узнавания макросимбионтом микросимбионта. К таким веществам, например, относятся лектины бобовых растений, которые, являясь агглютинидами, прикрепляют ризобии к поверхности корней и оказывают влияние на разнообразные процессы, протекающие на разных этапах становления симбиоза. Так, было показано, что предварительная инкубация ризобий с лектином растения-макросимбионта повышает количество клубеньков и, следовательно, продуктивность симбиоза. Известно, что специфичность бобово-ризобиального симбиоза изменяется в присутствии лектинов. Ранее мы получили целый ряд композитных небобовых растений, корни которых были трансгенны по гену лектина из семян гороха посевного, и, в дальнейшем, обрабатывали эти растения ризобиями гороха посевного *Rhizobium leguminosarum*. Микроскопирование и количественный анализ показали многократное, более чем на порядок увеличение численности бактерий на поверхности трансформированных корней. Полученные результаты доказали, что при создании искусственных симбиотических систем лектины можно использовать в качестве агентов, прикрепляющих полезные ризобии к корням. В частности, колонизация трансгенных по гену лектина корней композитных растений томата, рапса и огурца ризобиями *R. leguminosarum* с фунгистатической активностью способствовала защите растений от фитопатогенных грибов. Результаты, полученные на композитных растениях, были подтверждены на растениях томата и табака, полностью агробактериально трансформированных геном *psl* под управлением RB7 промотора. На основании этих данных можно сделать вывод, что интеграция в геном небобовых растений генов лектинов бобовых под контролем корнеспецифичного RB7 промотора позволяет успешно формировать устойчивые корневые ассоциации полученных трансгенных растений с ризобиями, обладающими фунгистатическими свойствами.

Таким образом, например, была разработана система агробактериальной трансформации томата промышленного сорта Грунтовый Грибовский 1180 геном лектина гороха посевного *psl*, что позволило получить устойчивые корневые ассоциации этой важной для сельского хозяйства культуры с ризобиями, защищающими от фитопатогенных грибов. Полученные данные доказали, что RB7 промотор обеспечивает достаточную для формирования ассоциативного симбиоза экспрессию гена лектина в корневой системе растений.

Бактериальные агглютинины также могут выступать в качестве молекул-посредников при прикреплении клубеньковых бактерий к корням. Эти белки специфически связываются с растением-макросимбионтом, способствуют деформации корневых волосков, активируют протеолитические ферменты и оказывают опосредованное влияние на бутонизацию и увеличение биомассы растений. К таким веществам относится семейство "Rap" белков, обладающих сродством к клеточной поверхности ризобий. Эти белки содержат один или несколько, так называемых, "RA" (rhizobium-adhering) доменов, которые состоят из 100-120 аминокислотных остатков, имеющих высокую степень гомологии. Несколько подобных белков были обозначены как RapA, RapB и RapC. Две изоформы RapA, обозначенные как RapA1 и RapA2 были выделены из *R. leguminosarum* bv. *trifolii*. Было показано, что сверхэкспрессия RapA1 в ризобиях вызывала увеличение их числа на поверхности корневых волосков бобовых и повышала эффективность образования клубеньков. Ранее нами с помощью Pfu-полимеразы была амплифицирована кодирующая часть гена *rapA1* (727 п.н.) из ДНК штамма *R. leguminosarum* PVu5, выделенного из клубеньков фасоли обыкновенной. Далее ген *rapA1* был клонирован в бинарный вектор для трансформации растений pCambia1301 вместе с лидерным пептидом лектина гороха посевного *psl* (110 п.н.) под управлением конститутивного 35S промотора вируса мозаики цветной капусты. В дальнейшем с помощью бактерий *Agrobacterium rhizogenes* 15834 были получены композитные растения томата, стабильно продуцирующие белок RapA1 в корнях, что было доказано с помощью Вестерн-блот анализа белков. Кроме того, был проведен иммунофлуоресцентный анализ, показывающий локализацию целевого белка RapA1 на поверхности трансгенных корней томата. Далее проводили проверку адгезии бактерий к корневым волоскам композитных растений. Для этого корни опытных и контрольных растений в возрасте одного месяца инокулировали ризобиями *R. leguminosarum* PVu5, предварительно маркированным красным флуоресцентным белком (RFP). После инкубации корней с бактериями (24 часа) проводили подсчет числа адгезированных клеток на корнях контрольных и композитных растений. Анализ показал, что на корнях, трансгенных по гену *rapA1*, сорбировалось в среднем в 15 раз больше бактерий, по сравнению с контрольными растениями.

Полученные данные не оставляют сомнений в том, что бактериальный агглютинин RapA1 из *R. leguminosarum*, также как и лектины бобовых растений, возможно использовать в качестве инструмента для модификации существующих симбиотических систем и для создания ассоциативных систем *de novo*.

## **Новый метод количественного определения водного потенциала апопласта клеток мезофилла в подустьичной полости листа**

*Воронин П.Ю. \*, Рахманкулова З.Ф. \*, Шуйская Е.В. \*, Маевская С.Н. \*, Николаева М.К. \*, Максимов А.П. \*\*, Максимов Т.Х. \*\*, Мясоедов Н.А. \*, Балнокин Ю.В. \*, Рымарь В.П. \*\*\*, Валдайских В.В. \*\*\*, Кузнецов Вл.В. \**

\* Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Ботаническая ул., 35, Москва, Россия;

\*\* Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, пр. Ленина, 41, Якутск, Россия;

\*\*\* Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина, пр. Ленина, 51, Екатеринбург, Россия.

[pavel@ippras.ru](mailto:pavel@ippras.ru)

Описан новый метод количественного определения водного потенциала апопласта клеток мезофилла в подустьичной полости листьев травянистых (кукуруза, просо, пшеница, амарант, сведа) и древесных (лиственница, сосна и береза) видов растений с помощью современных приборов для измерения фотосинтетического  $\text{CO}_2/\text{H}_2\text{O}$  газообмена. В различных экспериментальных моделях использовали растения разных видов, выращенных в условиях фитотрона и вегетационного домика, или произрастающих в природных насаждениях. Метод заключается в инструментальном определении на свету такого уровня влажности над поверхностью листа, по достижении которого транспирация снижается до нуля без заметного подавления фотосинтетической ассимиляции  $\text{CO}_2$ , что позволяет рассчитать значение водного потенциала на границе водной и газовой фаз апопласта клеток мезофилла в подустьичной полости.

## **Полисахариды слизи, образуемой семенами льна при набухании: особенности строения и функциональная значимость**

*Гайфуллина И.З. \*, Микшина П.В. \*, Шашков А.С. \*\*, Горшкова Т.А. \**

\* Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, ул. Лобачевского 2/31, Казань, Россия;

\*\* Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, Москва, Россия.

[gaifullina9292@mail.ru](mailto:gaifullina9292@mail.ru)

Интерес к семенам, которые при набухании продуцируют слизь, появился более восьмидесяти лет назад. Выявлено, что ключевую роль в функциональной пригодности этой слизи играют входящие в ее состав полисахариды. Задача секретируемых на поверхность семян при попадании влаги полисахаридов сформировать своеобразную капсулу и обеспечить комфортное микроокружение для прорастания. Помимо этого известно, что слизь семян «работает» как питательный резерв и участвует в обеспечении защиты семян от микроорганизмов. Наконец, слизь участвует в прикреплении семян к различным поверхностям (почва, животные, одежда), что обеспечивает эффективное распространение семян.

В составе слизи, продуцируемой семенами льна при набухании, присутствуют два ключевых высокомолекулярных полисахарида – рамногалактуронан I и арабиноксилан – строение которых кардинально отличается от типичных представителей этих классов полисахаридов. Так, в составе рамногалактуроана I слизи семян льна доля рамнозы вдвое превышает долю галактуроновой кислоты, что подразумевает наличие в структуре этого полисахарида фрагментов гоморамнана; среди компонентов боковых цепей – ключевое место занимают цепи из единичных остатков L-галактозы, замещающей остатки рамнозы в положении O-3, вместо традиционного для большинства рамногалактуронанов I O-4 положения. Такие особенности структуры этого типа рамногалактуронана I позволяют ему формировать звездоподобные структуры, в которых боковые цепи направлены в разные стороны относительно остова, что, судя по всему, повышает возможность этого полисахарида к взаимодействию с арабиноксиланом и повышению вязкости слизи, образуемой семенами. Эффективность взаимодействия этих полисахаридов, судя по всему, обеспечивается и необычным строением арабиноксилана, боковые цепи из единичных остатков арабинозы которого замещают остатки ксиланового остова не более распространенным для этих полисахаридов способом (по O-3 положению), а по O-2 (монозамещение) и по O-2 и O-3 положениям (дизамещение). Представленные в докладе обобщения об особенностях строения этих полисахаридов, как ключевых компонентов слизи, продуцируемой семенами льна при набухании, позволят приблизиться к установлению возможных детерминант их структурно-функциональной взаимосвязи и принципов формирования углеводов-углеводных комплексов.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта президента РФ для государственной поддержки молодых российских ученых МК-8393.2016.4.

**Сверхэкспрессия апопластной инвертазы в камбиальной зоне приводит к изменению сценария ксилогенеза и сопровождается снижением продуктивности древесных растений***Галибина Н.А., Новицкая Л.Л., Мощенская Ю.Л., Никерова К.М.*Институт леса Карельского научного центра РАН, Пушкинская, 11, Петрозаводск, Россия.  
[galibina@krc.karelia.ru](mailto:galibina@krc.karelia.ru)

Ксилогенез – процесс формирования ксилемы, включает в себя образование ее структурных элементов и синтез полимерных компонентов клеточной стенки. Продукция ксилогенеза – древесина, составляет до 80% биомассы дерева, поэтому поиск путей эффективного управления этим процессом является весьма актуальным как с точки зрения повышения продуктивности растений, так и получения древесины с заданными свойствами.

Формы березы повислой – обычная береза повислая (*B. pendula* var. *pendula*) и карельская береза (*B. pendula* var. *carelica*) – представляют собой уникальный объект для изучения механизмов регуляции ксилогенеза древесных растений. Для древесины березы характерен широкий спектр разнообразия структурных элементов: она состоит из сосудов, волокнистых трахеид, волокнистых элементов, приближенных по структуре к волокнам либриформа, и клеток паренхимы. У обычной березы образуется древесина упорядоченного строения с типичной для древесных растений вертикально-тяжевой ориентацией водопроводящих и механических элементов. У карельской березы камбий может образовывать как нормальную по строению, так и аномальную древесину, в которой нарушены соотношение и пространственная ориентация структурных элементов. Из всех древесных пород структурные аномалии древесины выражены у карельской березы наиболее ярко, характеризуются большим разнообразием проявления в онтогенезе и высоким уровнем эндогенной изменчивости; их появление, развитие и затухание зависят от воздействия факторов среды.

Образование древесины происходит в результате активности камбия. Камбий – гетеротрофная ткань, для его деятельности необходим приток сахарозы, донорами которой выступают фотосинтезирующие листья. Сахароза может вступать в метаболические процессы только после утилизации ее инвертазой и сахарозосинтазой. На взрослых растениях березы с нормальной и аномальной по строению древесиной изучена активность ферментов, утилизирующих сахарозу (АпИInv – апопластной инвертазы, ЦитИInv – цитоплазматической инвертазы, СС – сахарозосинтазы) на разных стадиях ксилогенеза. Отбор образцов проводили в период формирования ранней тонкостенной древесины (15 июня), в период активизации отложения вторичной клеточной стенки (7 июля) и в период интенсивного отложения вторичной клеточной стенки (25 июля). Выявлены молекулярно-генетические закономерности двух сценариев ксилогенеза, связанных с образованием (1) нормальной ксилемы и (2) ксилемы с разной степенью аномальности вторичных проводящих тканей.

При формировании нормальной по строению древесины в камбиальной зоне и дифференцирующейся ксилеме (основном акцепторе фотоассимилятов в середине июня – июле) утилизация сахарозы происходит в основном ЦитИInv и СС. В период формирования ранней древесины (15 июня) сахароза утилизируется ЦитИInv с образованием фруктозы и глюкозы. Последняя увеличивает уровень экспрессии генов, кодирующих циклины D-типа, повышая митотическую активность клеток. Переход к фазе активизации отложения целлюлозной оболочки (середина – конец июля) связан с постепенным снижением активности ЦитИInv и возрастанием активности СС. Образующаяся в результате сахарозосинтазного расщепления УДФ-глюкоза активно расходуется на синтез компонентов клеточной стенки. При формировании аномальной (узорчатой) древесины на фоне меньшего в 1.5-1.6 раз содержания сахарозы ниже активность ЦитИInv и СС, то есть процессы структурообразования ксилемы идут менее интенсивно, чем при формировании нормальной по строению древесины. Сахароза может утилизироваться в апопласте АпИInv. У обычной березы в период активного деления клеток (15 июня) наблюдается низкая активность АпИInv, которая несколько возрастает в период интенсивного отложения вторичной клеточной стенки (25 июля). У узорчатых растений активность АпИInv в 4 раза выше, как в растущей ксилеме, так и во флоэме. Высокая утилизация сахарозы АпИInv во флоэме узорчатых растений может в свою очередь приводить к ослаблению потока сахарозы к дифференцирующейся ксилеме.

Регуляция активности АпИInv осуществляется на транскрипционном и посттранскрипционном уровнях. Количество транскрипта генов *CWIN*, кодирующих АпИInv, в аномальных участках превышает таковые в нормальных тканях ксилемы (в 1.3-2 раза) и флоэмы (в 2.3-3 раза), что согласуется с большей активностью АпИInv. При этом в исследуемых тканях при переходе от одной фазы камбиального роста к другой не обнаружено прямой корреляции между уровнем экспрессии генов *CWIN* и активностью АпИInv. Более тонкая регуляция активности АпИInv осуществляется на посттранскрипционном уровне через белковый ингибитор апопластной инвертазы растений, кодируемый геном *C/IVF* (*CIF*). Появление избытка сахарозы в апопласте снижает уровень экспрессии генов *CIF*, приводя к возрастанию активности АпИInv. У узорчатых растений на фоне большей экспрессии генов *CWIN* выше активность АпИInv, как в ксилеме, так и во флоэме. При этом уровень экспрессии *CIF* значительно ниже по сравнению с безузорчатыми растениями. Последнее свидетельствует о том, что в аномальной древесине наблюдается высокое содержание сахарозы в апопласте, в то время как в нормальной по строению ксилеме большая часть сахарозы является цитоплазматической и расходуется на синтез компонентов клеточной стенки ксилемы.

## Активность энергодиссипирующих и антиоксидантных систем теневого и светового фенотипов растений

Головко Т.К., Далькэ И.В., Дымова О.В., Захожий И.Г., Силина Е.В., Табаленкова Г.Н., Шелякин М.А.

Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН Коммунистическая ул., 28, Сыктывкар, Россия  
[golovko@ib.komisc.ru](mailto:golovko@ib.komisc.ru)

Свет является необходимым условием существования фотосинтезирующих организмов и ведущим фактором среды, к которому адаптируются все фотосинтезики. Экологические условия местообитаний, как правило, соответствуют физиологической норме световых реакций поселяющихся там видов растений. Можно полагать, что виды, заселяющие экотопы с разным световым режимом, отличаются широкой нормой реакций, способны обеспечивать защиту фотосинтетического аппарата (ФСА) от избыточной инсоляции и эффективно использовать свет разной интенсивности.

Виды рода *Plantago* адаптируются к условиям внешней среды, проявляя поразительную фенотипическую пластичность. Фенотип можно рассматривать как совокупность всех внешних и внутренних структур и функций организма, которая может быть описана и изучена морфологическими, анатомическими и физиологическими методами.

Результаты наших многолетних исследований показали, что способность *Plantago media* занимать местообитания с различным световым режимом, формируя при этом морфологически отличающиеся фенотипы, во многом определяется адаптивными и защитными реакциями фотосинтеза на разных уровнях организации фотосинтетического аппарата. Установлены анатомо-морфологические, биохимические и физиологические механизмы, обеспечивающие устойчивость и защиту растений от фотоингибирования. Растения светового фенотипа формировали толстые и мелкие листья с высокой удельной поверхностной плотностью, хорошо развитым столбчатым мезофиллом. Они содержали больше фенольных соединений, играющих важную роль в самых разных физиологических процессах, включая защитные реакции. Различия в содержании АФК, активности антиоксидантных ферментов и ПОЛ свидетельствуют о повышенной стрессированности листьев светового фенотипа. Более высокий уровень изотопной дискриминации углерода (менее отрицательная величина  $\delta^{13}\text{C}$ ) в тканях световых листьев может указывать на наличие  $\beta$ -карбокислирования, особенно в жилках.

Выявлены закономерности функционирования энергодиссипирующих путей в хлоропластах и митохондриях листьев. Листья светового фенотипа отличались относительно высоким содержанием пигментов ксантофиллового цикла и уровнем их конверсии, что согласуется с данными об эффективности реализации поглощенной световой энергии в фотохимических реакциях ФСII, полученными на основе определения параметров индуцированной флуоресценции хлорофилла *a*. Интересно отметить, что у обоих фенотипов потенциальная квантовая эффективность ФСII (Fv/Fm) сохранялась на высоком уровне в широком диапазоне температуры, 5–35 °С. При супeroптимальной температуре 45 °С листья теневого фенотипа снижали потенциальную фотохимическую активность сильнее, чем листья световых растений, по-видимому, вследствие более высокой текучести мембран. Липидная фракция листьев светового фенотипа характеризовалась большим индексом насыщенности жирных кислот по сравнению с теневыми.

Детальные исследования дыхания выявили, что световые условия обитания растений оказывают регуляторное влияние на митохондриальное дыхание, воздействуя на активность дыхательных путей. Вовлечение низкоэнергетического альтернативного пути (АП) было сильнее выражено у листьев светового фенотипа. Вклад АП в общее поглощение  $\text{O}_2$  возрастал до 60% в дневные часы, когда световые растения испытывали действие высокой инсоляции. Вовлечение АП способствует окислению образовавшегося в световых реакциях избытка восстановителя (НАДФН), не использованного на ассимиляцию  $\text{CO}_2$  вследствие депрессии реакций метаболизма углерода. Это снижает опасность перевосстановления ЭТЦ, образования активных радикалов и развития деструктивных окислительных процессов в клетке.

Листья растений светового фенотипа интенсивно ассимилировали и эффективно использовали воду в утренние часы. Снижение видимого фотосинтеза в течение дня на фоне высокой освещенности обусловлено комплексом факторов (увеличение устьичного сопротивления, повышение диссипации поглощенной световой энергии, снижение фотохимического тушения и реального квантового выхода). Фотосинтетический аппарат листьев теневого фенотипа лучше адаптирован к низкому уровню ФАР, о чем свидетельствует величина интенсивности радиации приспособления. Интенсивность ФАР, при которой фотосинтез листьев теневых растений достигает 50% от максимальной величины, в 1.5 раза ниже, чем у листьев световых растений.

Результаты популяционного генетического анализа с использованием межмикросателлитных маркеров (Intersimple sequence repeats – ISSR) свидетельствуют о статистически значимых генетических различиях между фенотипами, что может указывать на наличие микроэволюционных процессов, способствующих отбору растений со свойствами, обеспечивающими их соответствие световому режиму в различных местообитаниях.

Исследования выполнены в рамках проектов «Фотосинтез и сопряженные процессы: молекулярные, физиолого-биохимические и экологические аспекты» (№ГР 012014661097) и «Физиология и стресс-устойчивость фотосинтеза растений и пойкилогидрических фотоавтотрофов в условиях Севера» (№ АААА-А17-117033010038-7)



**Липоксигеназный каскад растений: динамика экспрессии генов при инфицировании фитопатогенами и структурно-функциональная характеристика соответствующих ферментов***Горина С.С., Смирнова Е.О., Фатыхова В.С., Петрова О.Е., Топоркова Я.Ю., Мухтарова Л.Ш., Гречкин А.Н.*ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН, 420111, ул. Лобачевского 2/31, Казань, Россия  
[gsvetlana87@gmail.com](mailto:gsvetlana87@gmail.com)

В растениях обширную группу низкомолекулярных соединений составляют оксипирины – окисленные производные жирных кислот – участвующие в ответных реакциях на механические повреждения, воздействие патогенов и факторов окружающей среды, обеспечивая адекватный ответ организма в условиях стресса. К оксипиринам, образующимся в рамках липоксигеназного каскада, относятся жасмонаты, гидроперокси-, гидрокси-, оксо- и эпокси-производные жирных кислот, дивиниловые эфиры, летучие альдегиды и др. Такое разнообразие обеспечивается координированной работой ключевых ферментов каскада – липоксигеназ и цитохромов P450 семейства CYP74: алленоксидсинтаз (АОС), гидропероксидлиаз (ГПЛ), дивинилэфирсинтаз (ДЭС) и эпоксиалкогольсинтаз (ЭАС).

Липоксигеназный каскад цветковых и голосеменных растений начинается с преобразования жирных кислот с длиной цепи восемнадцать углеродных атомов (C<sub>18</sub>), тогда как у мхов он может инициироваться превращением как C<sub>18</sub>, так и жирных кислот с длиной цепи двадцать углеродных атомов (C<sub>20</sub>), что характерно для каскада животных. Другой отличительной особенностью мхов является отсутствие жасмоновой кислоты, наиболее известного метаболита алленоксидсинтазной ветви липоксигеназного каскада. Биосинтез жасмоновой кислоты у мхов прерывается после образования оксофитодиеновой кислоты (ОФДК). В связи с этим, возникает вопрос об активации/ингибировании ряда генов при протекании инфекционного процесса, поскольку жасмонаты играют важную роль в устойчивости растений к различным заболеваниям и насекомым-вредителям, регулируя активность генов. Сравнительная характеристика данных об активации/ингибировании генов ферментов липоксигеназного каскада при протекании инфекционного процесса у цветковых растений и мхов может помочь приблизиться к решению этого вопроса.

В ходе работы в качестве модельных объектов были выбраны как представители однодольных, так и двудольных растений, тогда как среди мхов выбор был остановлен на *Physcomitrella patens*, ставшей к настоящему моменту популярным модельным объектом для исследований. В геноме *Ph. patens* присутствуют восемь генов липоксигеназ, две из которых предпочтительно используют в качестве субстрата арахидоновую (20:4) и эйкозопентаеновую (20:5) жирные кислоты, тогда как другие предпочтительно утилизируют линоленовую кислоту (18:3). Синтезируется спектр гидроперекисей, которые могут преобразовываться при участии двух алленоксидсинтаз (PrAOS1 и PrAOS1) и одной гидропероксидлиазы (PrHPL). Таким образом, спектр оксипиринов расширяется не за счет разнообразия ферментов, преобразующих гидроперекиси, как у высших растений, а за счет ферментов, образующих разнообразные гидроперекиси.

В наших исследованиях показано, что в ходе развития инфекционного процесса происходит активация 18:3 ветви липоксигеназного каскада, тогда как 20:4 и 20:5 подавляются. Внешние признаки проявления инфекции у *Ph. patens* при инфицировании клетками *Pectobacterium atrosepticum* SCRI1043 (появление симптомов мягкой гнили) сходны с таковыми у сосудистых растений. Большинство цветковых растений характеризуются наличием значительного числа изоформ ферментов CYP74. Показано, что динамика экспрессии таких генов является органо- и тканеспецифичной; кроме того, наблюдаются различия в ходе развития инфекционного процесса. Наблюдается частичное (или полное) подавление одних ветвей липоксигеназного пути в пользу других. Показано, что при наличии генов дивинилэфирсинтаз экспрессия этих генов занимает центральное место. Так, у льна-долгунца (*Linum usitatissimum*) при инфицировании происходит индукция экспрессии всех четырех генов дивинилэфирсинтаз, тогда как алленоксидсинтазный путь участвует в формировании общего ответа на стрессовый фактор. В то же время, функционирование гидропероксидлиаз различается не только у разных видов растений, но и зависит от изоформы фермента. По-видимому, это связано со значением образуемых продуктов, которыми могут быть различные оксо-кислоты (в том числе травматин и травматиновая кислота) либо летучие соединения, принимающие участие в перекрестных взаимодействиях между растениями, а также между растениями и насекомыми. Для адекватного представления о функционировании липоксигеназного каскада в ходе протекания инфекционного процесса нами была проведена структурно-функциональная характеристика соответствующих ферментов CYP74. Результаты работы вносят вклад в понимание механизмов регуляции метаболических процессов у растений в процессе взаимодействия со средой обитания, а также позволяют приблизиться к выявлению роли липоксигеназного каскада в этих процессах.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 15-04-08310-а, 16-34-60231-мол\_а\_дк и 16-34-00648-мол\_а.

## Восприимчивые ответы растений как фундаментальная основа развития растительно-микробных патосистем

Горшков В.Ю.\*\*\*, Губаев Р.Ф.\*, Даминова А.Г.\*, Петрова О.Е.\*, Гоголева Н.Е.\*\*\*, Гоголев Ю.В.\*\*\*

\*Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, ул. Лобачевского 2/31, Казань, Россия;

\*\*Казанский федеральный университет, ул. Кремлевская 18, Казань, Россия

[gyy84@mail.ru](mailto:gyy84@mail.ru)

Вопросы становления растительно-микробных патосистем традиционно рассматривают с двух основных позиций: продукции факторов вирулентности микроорганизмами и мобилизации иммунных ответов растениями. Защитные ответы растений, согласно теории Флора «ген на ген», могут быть следствием распознавания продукта *avr*-гена микроорганизма продуктом растительного R-гена, что приводит к индукции реакции сверхчувствительности и элиминированию патогена; при таком взаимодействии макро- и микроорганизм рассматриваются как генетически несовместимые. Когда такого распознавания не происходит, развивается инфекция; в таком случае патоген и хозяин считаются генетически совместимыми. Теория Флора прекрасно иллюстрирует качественные аспекты устойчивости, но при этом не объясняет причин неоднородности проявления заболевания. В случаях, когда продукты *avr*- и R-генов не взаимодействуют, уровень устойчивости растений к патогену может варьировать от полного ее отсутствия до 100%. При этом дифференциальный характер инфекционного процесса является следствием двух основных причин. Первая причина – это количественная устойчивость, которая элиситруется консервативными метаболитами патогена и может в той или иной степени сдерживать развитие микроорганизма *in planta*. Многие физиологические параметры количественной устойчивости охарактеризованы и концептуализированы. Вторая причина разнородного течения инфекционного процесса связана с реакциями растения, которые называют восприимчивыми ответами. Несмотря на то, что примеров восприимчивых ответов описано достаточно много, фундаментальных обобщений по этому вопросу сделано не было. Формулировка таких обобщений, в том числе, с привлечением экспериментальных данных авторов, составляет цель предлагаемого доклада.

Восприимчивые ответы представляют собой реакции растения, индукция которых при растительно-микробных взаимодействиях благоприятствует развитию патогенного организма *in planta*, а репрессия – к повышению устойчивости растений к паразитам. Неоднократно было отмечено, что формирование патосистемы зависит не только от фитоиммунных ответов, но и от физиологических процессов хозяина составляющих основную метаболизм (рост и дифференцировка клеток, транспорт воды и фотоассимилятов, поглощение неорганических веществ и т.д.), но не имеющих прямого отношения к защитным системам. Поэтому восприимчивость растений к патогенам нельзя рассматривать как просто неэффективность защитных систем; помимо этого, она подразумевает активацию патогеном таких реакций, которые обеспечивают кондиционирование внутренней среды хозяина, делая ее более пригодной для патогена. Эти реакции, как правило, являются следствием обманной тактики патогена, нацеленной на модификацию физиологии хозяина и формирование подходящей экологической ниши из растительного организма. Фактически, восприимчивые ответы приводят к тому, что растение начинает функционировать не как автономный организм, а как компонент интегрированной системы паразит/хозяин.

Восприимчивые ответы растений сопряжены с патоген-регулируемой активацией экспрессии *susceptibility* (S)-генов, «нокаут» или «нокдаун» которых выражается формированием рецессивной устойчивости. Многие S-гены необходимы растениям для осуществления базовых физиологических процессов (рост, развитие и т.д.), поэтому они, в отличие от большинства R-генов, экспрессируются и в отсутствие патогена и не могут быть элиминированы в процессе эволюции, несмотря на их негативное влияние на устойчивость к паразитам. Уровень экспрессии S-генов контролируется разными регуляторными системами в зависимости от стадий онтогенеза, физиологического статуса, типа ткани, внешних условий и многих других факторов. Причем, вследствие иерархического принципа регуляции, модуляция экспрессии этих генов при патогенезе в рамках тактики патогена может оказаться невозможной или недостаточно эффективной. По всей вероятности, это является одной из причин разной степени восприимчивости растения к определенному патогену на разных стадиях онтогенеза, в неоднородных условиях окружающей среды и т.д. Поэтому разные сочетания восприимчивых ответов и их количественный уровень в каждом конкретном случае может формировать основу для тонкой настройки растительно-микробных взаимоотношений, приводя к разнообразию форм взаимодействия макро- и микроорганизмов.

Разработка подходов для манипулирования восприимчивыми ответами формирует перспективную основу для растениеводства, которая имеет целый ряд преимуществ по сравнению с использованием в качестве мишеней генов устойчивости. В докладе, помимо фундаментальных вопросов, будут рассмотрены как потенциально возможные способы контроля бактериозов растений на основе модуляции восприимчивых ответов, так и подходы, уже апробированные в сельскохозяйственной практике.

Работа поддержана грантом РФФИ №15-14-10022.

## Факторы транскрипции как ключевые регуляторы формирования клеточной стенки

Горшкова Т.А., Мокшина Н.Е., Горшков О.В.

ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, 420111, г. Казань, ул. Лобачевского, 2/31  
[gorshkova@kibb.knc.ru](mailto:gorshkova@kibb.knc.ru)

Факторы транскрипции — белки, которые взаимодействуют с характерными участками ДНК, расположенными в регуляторных областях генов, в частности в промоторах, и изменяют константы связывания с ними РНК-полимеразы. Существует множество типов факторов транскрипции: в геномах растений идентифицированы тысячи их генов, которые группируют в десятки семейств. В одной клетке одновременно присутствуют многочисленные факторы транскрипции, которые в различных комбинациях связываются с промоторными участками генов, обеспечивая настройку экспрессии генов для конкретной физиологической ситуации. Существует иерархия факторов транскрипции: некоторые, так называемые главные переключатели (master switch) могут регулировать транскрипцию большой группы генов, например, всех или большинства генов, задействованных в осуществлении какого-то процесса. Другие — осуществляют более тонкую настройку.

Для вторичной клеточной стенки, составляющей основную массу большинства растительных организмов, система регулирующих факторов транскрипции в значительной степени установлена. Выявлены master switch, воздействующие на гены сразу многих ферментов, которые обеспечивают синтез всех основных компонентов вторичных стенок — целлюлозы, ксилана и лигнина, а также факторы с более специфичным действием. Факторы транскрипции оказались мощным инструментом, позволяющим кардинально менять процесс отложения вторичной стенки, причем показана принципиальная возможность делать это тканеспецифично. Так, нокаут двух генов представителей семейства NAC - NST1 и NST3, было достаточно, чтобы полностью предотвратить формирование вторичной клеточной стенки в межпучковых волокнах *Arabidopsis thaliana* (Mitsuda et al., 2007). А экспрессия под контролем 35S промотора генов других факторов транскрипции из NAC семейства - VND6 и VND7 — приводила к формированию локальных утолщений вторичной клеточной стенки в клетках мезофилла и эпидермиса и их трансдифференцировке в клетки метаксилемы и протоксилемы, соответственно (Kubo et al. 2005).

Исследования факторов транскрипции, участвующих в формировании первичной и третичной клеточных стенок, значительно менее продвинуты. Пока не установлен даже их перечень. При этом перспективы использования таких факторов в биотехнологических целях могут быть очень заманчивы, поскольку образование первичной стенки — ключевой процесс роста растяжением, а дополнительное отложение третичной клеточной стенки, которая исключительно обогащена целлюлозой, может быть крайне привлекательно для конверсии растительного сырья в различные продукты.

Для выявления факторов транскрипции, задействованных на стадии формирования третичной клеточной стенки, мы анализировали полный транскриптом волокон льна на продвинутых стадиях специализации с помощью платформы Illumina HiSeq/MiSeq. Верификацию данных осуществляли с использованием ПЦР в реальном времени, их анализ проводили, применяя комплекс баз данных (Phytozome, PlantTFDB, TAIR, Place) и различных он-лайн программ биоинформатики (The Galaxy tools, MEME, MapMan, CoExpNetViz). При сравнении с транскриптомами других тканей, выявляли дифференциально экспрессируемые гены. Была детектирована транскрипция 984 генов, кодирующих факторы транскрипции, которые относятся к 53 семействам. Обнаружено, что экспрессия генов факторов транскрипции, характерных для формирования вторичных клеточных стенок, заингибирована. Наиболее резко активирована экспрессия генов представителей семейств bZIP, CO-like, HD-ZIP, MYB-related, NAC and TCP, что свидетельствует об их возможном участии в инициации и контроле синтеза третичной КС (Gorshkov et al., 2017). Подходы для дальнейшей характеристики выявленных факторов и полученные результаты будут представлены в докладе.

Аналогичные работы для выявления факторов транскрипции, участвующих в регуляции формирования первичной клеточной стенки, реализованы при анализе транскриптома волокон на стадии интрузивного роста, выделенных из стебля с помощью лазерной микродиссекции.

Исследования проведены при финансовой поддержке РФФИ (грант 16-14-10256).

Kubo M, Udagawa M, Nishikubo N, Horiguchi G, Yamaguchi M, Ito J, Mimura T, Fukuda H, Demura T. Transcription switches for protoxylem and metaxylem vessel formation. *Genes Dev.* 2005, 19:1855-1860.

Mitsuda N, Iwase A, Yamamoto H, Yoshida M, Seki M, Shinozaki K, Ohme-Takagi M. (2007) NAC transcription factors, NST1 and NST3, are key regulators of the formation of secondary walls in woody tissues of *Arabidopsis*. *Plant Cell* 19: 270–280.

Gorshkov O, Mokshina N, Gorshkov V, Chemikosova S, Gogolev Y, Gorshkova T. Transcriptome portrait of cellulose-enriched flax fibres at advanced stage of specialization. *Plant Mol Biol.* 2017; 93: 431-449.

## Глобальное профилирование патоген-индуцируемых ответных реакций растений с помощью РНК-секвенирования

Губаев Р.Ф.<sup>1,2</sup>, Горшков В.Ю.<sup>1,2</sup>, Даминова А.Г.<sup>1</sup>, Петрова О.Е.<sup>1</sup>, Гоголева Н.Е.<sup>1</sup>, Гоголев Ю.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН, Казань, Россия

<sup>2</sup>Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

[rim.gubaev@kibb.knc.ru](mailto:rim.gubaev@kibb.knc.ru)

Становление и развитие растительно-микробной патологической системы предполагает динамичное преобразование растительного организма в результате активации патогеном ответов у хозяина, которые можно условно классифицировать на защитные и восприимчивые. Первый тип ответов негативно влияет на размножение патогена *in planta*, а второй, наоборот, благоприятствует, преобразуя внутреннюю среду растения и адаптируя ее для жизни микроорганизмов. Ответы растений при заболеваниях, вызываемых пектобактериями, описаны весьма скудно, не смотря на то, что эти микроорганизмы относятся к одним из наиболее вредоносных и хорошо изученных. Их основным оружием считаются экстраклеточные ферменты, разрушающие клетки и ткани растений. Генетические детерминанты устойчивости растений к пектобактериями, а также критерии восприимчивого ответа на сегодняшний день неизвестны. Выяснение спектра ответов, связанных с устойчивостью и с восприимчивостью растений к этим микроорганизмам, во-первых, может предоставить ценную информацию о том, как формируется и развивается патологическая система и, во-вторых, сформировать основу для разработки способов контроля бактериозов растений.

Широко взглянуть на проблему комплексного описания физиологических ответов организма стало возможным благодаря методам высокопроизводительного РНК-секвенирования, которое позволяет оценить уровень экспрессии большинства генов. Безусловным преимуществом этой технологии по сравнению с другими «омиксными» подходами применительно к растительно-микробным патосистемам является возможность разделения информации об экспрессии двух геномов – растительного и бактериального, что недостижимо при проведении протеомного или метаболомного анализов. Кроме того, развитие информационных ресурсов и программного обеспечения постепенно упрощает и увеличивает эффективность классификации генов по функциональным категориям, что способствует преобразованию большого списка генов в относительно «компактную картину», отражающую особенности физиологии организма. В связи с этим, задачей нашего исследования было комплексное описание ответов растений табака, индуцируемых при взаимодействии с пектобактериями, с применением РНК-секвенирования.

Нами были подготовлены и секвенированы кДНК-библиотеки, соответствующие пулу мРНК интактных и инфицированных пектобактериями растений табака. После первичного анализа и селекции полученных в ходе секвенирования прочтений (ридов), а также их выравнивания на белок-кодирующие участки генома табака нами был определен список генов, экспрессирующихся дифференциально (ДЭГ) в инфицированных и неинфицированных растениях. Уровень экспрессии 3580 генов повышался, а 3350 снижался в ходе инфекции. При столь значительном списке ДЭГ автоматические алгоритмы функциональной классификации генов значительно увеличивают эффективность и облегчают процедуру физиологической интерпретации данных транскриптомного профилирования. В нашем исследовании такая классификация была затруднена отсутствием необходимой для этого исходной информации для растений табака. Однако эта проблема была нами преодолена: с помощью авторских скриптов мы сопоставили кодирующие участки генома табака с аминокислотными последовательностями картофеля, для которого гены классифицированы по функциональным категориям. Полученная информация была использована в качестве входных данных для программы MapMan, что позволило определить и визуализировать в виде наглядных схем функциональные модули генов, «работающие» по-разному в интактных и инфицированных растениях и таким образом выявить различия в их физиологических «портретах». Физиологическое преобразование растений при инфекции затрагивало модули генов, как связанные с ответом на биотические стрессоры, так и составляющие основной метаболизм. Судя по данным транскриптомного профилирования, при инфекции в растениях активировался вторичный метаболизм – источник антимикробных соединений. Кроме того, происходила индукция жасмонат- и этилен-опосредуемых гормональных систем, которые, как известно, координируют защитные ответы против патогенов. Однако наши данные, а также работы других исследователей свидетельствуют в пользу роли этих систем в формировании восприимчивости растений к пектобактериям. Модуляция общего метаболизма при инфекции была также связана с изменениями в обмене углерода, транспорте ассимилятов, деградации крахмала, фотосинтетических процессах, биогенезе клеточной стенки, процессах рециклизации макромолекул (убиквитин-зависимая деградация, аутофагия), клеточном цикле, работе ИУК-, гиббериллин-зависимых гормональных систем. В докладе вышеперечисленные патоген-индуцируемые ответы будут рассмотрены как аспекты защитного и восприимчивого ответов.

Работа поддержана Российским научным фондом (проект №15-14-10022).

## Особенности фотосинтетической активности у видов семейства Oleaceae с различной морозостойкостью

Губанова Т.Б., Браилко В.А.

ФГБУН «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад - Национальный научный центр»  
РАН, 298648 Ялта, Крым, Россия, Никитский спуск, 52  
[gubanova-65@list.ru](mailto:gubanova-65@list.ru)

Изучение особенности работы фотосинтетического аппарата у зимневегетирующих растений вызывает как практический, так и теоретический интерес. Это связано с возможностью диагностировать степень повреждения фотосинтезирующих органов отрицательными температурами задолго до их внешнего проявления и выявить звенья защитных механизмов способствующих осуществлению фотосинтетической активности в температурных условиях отличных от оптимальных.

В коллекции Никитского ботанического сада (НБС) имеется большое количество широколиственных вечнозеленых таксонов субтропического происхождения. Поскольку среди представителей семейства Oleaceae есть ценные плодовые и декоративные растения, то в качестве объектов исследований нами были выбраны следующие виды: *Jasminum* (*J. premianum*, *J. nudiflorum*), *Ligustrum* (*L. compactum*, *L. lucidum*, *L. delavayanum*), *Olea europea* (сорта Никитская, Каркджиоло, Асколано, Раццо) и подвид *O. europea subsp. cuspidate*.

Степень морозостойкости определяли путем прямого промораживания однолетних побегов при различных температурных режимах, с учетом вероятности наступления морозов, в течение зимнего периода в климатической камере «Votsh VT-4004» (градиент изменения температуры 2°C/час). Фотосинтетическую активность определяли по показателям индукции флуоресценции с применением флуориметра «Флоротест» (Украина, 2010). Рассчитывали фотосинтетическую активность  $(F_m - F_{st})/F_m$ , а также коэффициент спада флуоресценции (индекс жизнеспособности) –  $F_m/F_{st}$  (по Stirber, 2011). С целью определения влияния отрицательных температур на фотосинтетический аппарат, указанные параметры были проанализированы в контролируемых условиях при действии температуры –10°C в течении – 12 часов. Выбор такого температурного режима обусловлен тем, что вероятность наступления морозов такой интенсивности на ЮБК достаточно высока и является опасной для многих субтропических культур. Кроме того, нами установлено, что именно температура –10°C является начальной повреждающей для изучаемых представителей семейства Oleaceae.

Установлено, что максимальная морозостойкость у всех изучаемых видов приходится на третью декаду января-первую декаду февраля. Среди сортов маслины европейской низкотемпературная устойчивость снижается в ряду: Никитская – Раццо – Кареджиоло – Асколано. Подвид *O. europea subsp. cuspidate* характеризуется минимальной устойчивостью к морозам. Касательно видов рода *Jasminum*, относительно более морозостойким оказался *J. nudiflorum*. У представителей рода *Ligustrum* максимальная устойчивость отмечена у вида *L. lucidum*, а минимальная – у *L. compactum*.

В проведенном эксперименте базовый уровень флуоресценции ( $F_0$ ) изменился только у сорта 'Асколано' (*O. europea*) – относительная флуоресценция снизилась более чем в 2 раза. После низкотемпературного воздействия максимальная флуоресценция существенно снижена также у сорта Асколано, у листьев *L. compactum* и зеленых побегов *J. nudiflorum*; у некоторых таксонов ('Никитская' и листьев *L. compactum*)  $F_m$  повышается, у остальных – находится на одинаковом уровне с контролем. Так как, увеличение  $F_0$  у большинства таксонов мы не наблюдали, можно предположить, что хлорофилл-белковые комплексы, участвующие в поглощении и передаче световой энергии по электронно-транспортной цепи повреждены не были. При этом выявлено фотоингибирование на уровне миграции энергии к реакционным центрам, определяющее эффективность темновых процессов фотосинтеза у сорта *O. europea* 'Асколано', *O. europea subsp. cuspidate* и листьев *J. premianum*: показатель  $(F_m - F_{st})/F_m$  составил 0,37; 0,41 и 0,43 отн.ед.фл. соответственно. У указанных растений, а также сорта *O. europea* 'Раццо' и листьев *L. compactum* снижены коэффициенты спада флуоресценции:  $F_m/F_{st} \leq 3$  отн.ед. Стоит отметить, что контрольные образцы *J. premianum* и *O. europea subsp. cuspidate* имели повреждения на уровне функционирования комплексов фотосистемы-2:  $(F_m - F_{st})/F_m < 0,60$  отн.ед.,  $F_m/F_{st} < 3$  отн.ед.

Проанализировав полученные данные можно заключить, что воздействие температуры –10°C 12 часов приводит к разрушению компонентов фотосинтетического аппарата листьев *O. europea* 'Асколано', *O. europea subsp. cuspidate* и *J. premianum*. Нарушения в ассимиляционном аппарате у относительно морозостойких сортов маслины европейской – Никитская, Раццо, а также видов *L. lucidum*, *L. delavayanum* носят обратимый характер, что свидетельствует о наличии защитных механизмов позволяющих сохранять фотосинтетическую активность при неблагоприятных температурных условиях. Полученные данные по изменению фотосинтетической активности под влиянием отрицательных температур согласуются с характеристиками низкотемпературной устойчивости изучаемых видов и сортов, что позволяет рекомендовать использовать анализ изменения параметров индукции флуоресценции хлорофилла как способ диагностики развивающегося низкотемпературного стресса.

**Растительно-бактериальные ассоциации в условиях *in vitro* и *ex vitro***

**Евсеева Н.В. \*, Бурыгин Г.Л. \*, Ткаченко О.В. \*\*, Крицкая Т.А. \*\*\*, Матора Л.Ю. \*\*\*\*, Щеголев С.Ю. \*\*\*\***

\* Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН. Энтузиастов пр., 13, Саратов, Россия.

\*\* Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова. Театральная пл., 1, Саратов, Россия.

\*\*\* Национальный исследовательский Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского.

Астраханская ул., 83, Саратов, Россия

[evseeva\\_n@ibppm.ru](mailto:evseeva_n@ibppm.ru)

Изучение растительно-микробных симбиозов с участием ассоциативных (свободноживущих) бактерий занимает одно из приоритетных мест в ряду актуальных проблем современной биологии. Результаты метагеномных и филогенетических исследований последних лет указывают на то, что симбиотические ассоциации представляют собой одну из основных форм существования организмов в биосфере.

Культуры клеток и тканей растений *in vitro* являются удобной модельной системой для изучения ассоциативного симбиоза растений с бактериями и используются также в усовершенствовании технологий растениеводства. Данная модель позволяет исключить непредвиденные воздействия, которые неизбежно присутствуют в почве при выращивании растений в условиях *in vivo*, что делает возможной оценку только целевых факторов в изучаемых системах.

Цель работы – создание *in vitro* активных растительно-бактериальных ассоциаций для исследования особенностей взаимодействия макро- и микросимбионтов в данных условиях, стимулирования роста, развития, резистентности растений и последующей адаптации полученных регенерантов к условиям *ex vitro*.

В качестве микросимбионтов были использованы ростстимулирующие ризобактерии рода *Azospirillum*. Коллекционные штаммы использованы нами для оценки эффектов инокуляции при клональном микроразмножении растений картофеля (*Solanum tuberosum* L.) и смолевки меловой (*Silene cretacea* Fisch. ex Spreng) – исчезающего вида с узкой экологической амплитудой, остро нуждающегося в восстановлении численности популяций и являющегося перспективным источником производства лекарственного сырья.

Методами иммуноферментного анализа, флуоресцентной микроскопии и бактериологического посева подтверждена колонизация бактериями корней эксплантов *in vitro*. Установлено, что в среде Мурасиге-Скуга на 30-ые сутки культивирования количество бактериальных клеток снижалось примерно на 2 порядка (до  $10^4$  клеток на миллилитр среды), а на корнях сохранялось первоначальным ( $10^5$ - $10^6$  клеток на грамм корней). Это дает основания для вывода о сохранении бактериальными клетками жизнеспособности за счёт корневых экссудатов растений.

Полученные результаты показали, что бактериализация *in vitro* микрорастений картофеля приводила к улучшению физиологических и ростовых показателей выращиваемых растений, увеличению в полтора раза их приживаемости в полевых условиях и, в конечном итоге, к прибавке урожая мини-клубней с  $1\text{ м}^2$  более чем на 40%. Отмечено, что стимулирующий эффект не может быть связан с улучшением азотного питания растений за счет фиксации атмосферного азота азоспириллами, поскольку на безазотистой среде рост растений в условиях *in vitro* существенно угнетался независимо от присутствия бактерий. Более вероятной причиной стимулирования роста растений следует признать выделение бактериями фитогормонов. Кроме того, было показано, что бактерии *Azospirillum brasilense* Sp245 способствуют отложению каллозы в клетках проводящих элементов листьев и эпидемии корня картофеля, как одного из показателей, связанных с устойчивостью растений к биотическому стрессу.

Также было установлено, что флагеллин полярного жгутика штамма *Azospirillum brasilense* Sp7 влияет на рост микрорастений картофеля через активацию реакций фитоиммунитета. Выявлена зависимость между степенью гликозилирования бактериальных флагеллинов и уровнем фитоиммунных реакций.

Для смолевки меловой установлен факт успешной колонизации азоспириллами данных растений *in vitro*, а также значительное повышение способности к адаптации бактериализованных растений-регенерантов к нестерильным условиям *ex vitro* – увеличение приживаемости с 20 до 90%.

Таким образом, активно функционирующие растительно-бактериальные ассоциации в условиях *in vitro* могут быть достаточно информативной моделью для исследования молекулярных и клеточных механизмов взаимодействия макро- и микросимбионтов. Усовершенствованный нами способ клонального микроразмножения можно использовать в агробιοтехнологиях при получении высококачественных семян сельскохозяйственных растений, а также для массового получения посадочного материала редких видов растений в целях восстановления численности природных популяций.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ №16-04-01444

## Разработка селективных систем *in vitro* для получения форм эфиромасличных растений, устойчивых к низкотемпературному стрессу

Егорова Н.А., Ставцева И.В.

ФГБУН «НИИ сельского хозяйства Крыма». Киевская ул., 150, Симферополь, Крым, Россия  
[yegorova.na@mail.ru](mailto:yegorova.na@mail.ru)

Важнейшей задачей селекции сельскохозяйственных растений, в том числе и эфиромасличных, является создание высокопродуктивных сортов, устойчивых к абиотическим и биотическим стрессовым факторам среды. Биотехнологические методы способствуют решению многих вопросов селекции и семеноводства растений и повышению эффективности растениеводства. Одним из таких методов является клеточная селекция, которая позволяет получать генотипы с повышенной резистентностью к засухе, засолению почв, экстремальным температурам, солям тяжелых металлов, болезням и некоторым другим факторам. При разработке таких клеточных технологий важно создать адекватную селективную систему для скрининга генотипов с желаемыми свойствами, подобрать оптимальный объект для селекции *in vitro*, питательные среды, условия для регенерации растений из устойчивых клеток и многое другое. На сегодняшний день не существует единых методических подходов, приемлемых для разных стрессовых факторов и разных видов растений. Особенно это касается исследований по клеточной селекции на устойчивость к холодному стрессу. Целью данной работы было изучение действия низкой температуры на развитие изолированных культур некоторых эфиромасличных растений для разработки селективных систем отбора устойчивых к этому стрессу форм *in vitro*.

Материалом для исследований служили ткани и органы различных сортов и селекционных образцов лаванды узколистной (*Lavandula angustifolia* Mill.), кориандра посевного (*Coriandrum sativum* L.) и шалфея мускатного (*Salvia sclarea* L.). Эти виды являются основными выращиваемыми на юге России эфиромасличными растениями. В качестве объектов для отбора *in vitro* использовали каллусные культуры или изолированные зиготические зародыши. Для моделирования низкотемпературного стресса проводили закаливание культур (при снижении температуры от +6 до 0°C в течение 4-8 сут), промораживание (при снижении температуры от 0 до -16°C с различной экспозицией) и оттаивание (при повышении температуры от 0 до +6°C в течение 4-6 сут). Режимы холодной обработки варьировали в зависимости от вида растения, экспланта, варианта опыта. После этого каллусы или зародыши пересаживали на свежие питательные среды и культивировали при +26°C. Контролем служили культуры, постоянно выращиваемые при +26°C. В конце цикла выращивания у каллусов определяли массу, ростовой индекс и частоту морфогенеза, а у зародышей – частоту образования проростков и их морфометрические показатели (длину побега, количество листьев, длину корня).

У лаванды в качестве биотехнологического объекта для отбора *in vitro* использовали каллусные культуры. Показано преимущество применения для холодной обработки каллусов на линейной фазе ростового цикла по сравнению с каллусами на экспоненциальной или стационарной фазе. Изучено влияние на каллусо- и морфогенез различных вариантов промораживания, типа каллуса (неморфогенный и морфогенный), предварительной обработки колхицином и состава питательной среды. Установлены сублетальные режимы низкотемпературного стресса для разных типов каллусов и показана большая устойчивость морфогенных культур по сравнению с неморфогенными. Сублетальный режим промораживания для морфогенных каллусов включал снижение температуры до -12-14°C в течение 16 сут. Обработка каллусных культур колхицином в концентрации 10 и 100 мг/л в течение 14 сут способствовала повышению устойчивости к холодному стрессу. Выделены устойчивые к низким температурам каллусные линии. Показано, что индукция растений была более эффективной из морфогенных линий, тогда как из неморфогенных линий регенерация была незначительной.

У кориандра было изучено действие низкотемпературного стресса на развитие эмбрионных каллусов и изолированных зародышей *in vitro* и установлены сублетальные режимы промораживания. Выявлена большая устойчивость к холодному стрессу у эмбриокультур, чем у каллусов, которые выдерживали снижение температуры до -10°C (в течение 18 сут), тогда как скрининг зиготических зародышей можно было проводить при снижении температуры до -12°C с более продолжительной экспозицией (до 20-27 сут). Установлена корреляция между зимостойкостью сортов и селекционных образцов, различающихся по полевой зимостойкости, и основными показателями развития эмбриокультур. Это свидетельствует о возможности отбора в условиях *in vitro* форм, устойчивых к действию отрицательной температуры. Разработана схема селекции форм кориандра с повышенной устойчивостью к холодному стрессу, включающая последовательное культивирование каллусов и зародышей.

При разработке селективной системы у шалфея использовали культуру зиготических зародышей. Исследование различающихся по полевой зимостойкости сортов показало, что у более устойчивого сорта Тайган частота образования проростков после холодной обработки эмбриокультур была до 2,2-4,4 раз выше, чем у менее устойчивых сортов. В эксперименте был выявлен сублетальный режим промораживания зародышей – снижение температуры до -14°C в течение 7 сут. Показано, что добавление в питательную среду пролина в концентрации 400 мг/л позволяло увеличить количество отбираемых в эмбриокультуре резистентных форм, особенно для генотипов с невысокой устойчивостью к низкотемпературному стрессу.

## Салициловая кислота и адаптация растений к недостатку кислорода и последующему окислительному стрессу

Емельянов В.В., Ласточкин В.В., Бертова А.Д., Чиркова Т.В.

Санкт-Петербургский государственный университет, Университетская наб., 7/9, Санкт-Петербург, Россия  
[bootika@mail.ru](mailto:bootika@mail.ru)

Салициловая кислота (СК) – гормон, принимающий участие в регуляции фитоиммунитета, тем не менее, появляется все больше данных о вовлечении СК в регуляцию роста и развития растений, а также их устойчивости к разнообразным абиотическим воздействиям. В отношении действия аноксии и последующего окислительного стресса подобные данные в литературе отсутствуют. Цель работы состояла в анализе изменения содержания СК в растениях под действием дефицита кислорода и пост-аноксической аэрации. Объектами исследования являлись контрастные по устойчивости к аноксии растения пшеницы (*Triticum aestivum* L., неустойчивое растение) и риса (*Oryza sativa* L., устойчивое растение) и около 50 видов растений гидрофитов, произрастающих в Ленинградской области. Для всех растений было произведено измерение эндогенного уровня СК методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Также для растений риса был произведен анализ экспрессии генов, кодирующих ферменты биосинтеза и деконъюгации СК. Показано, что содержание свободной СК в побегах проростков риса в нормальных условиях выращивания в 20 раз превышало её количество в побегах пшеницы, тогда как корни растений нанапоивали близкие по значению концентрации свободной СК. Под действием краткосрочной (6-12 ч) аноксии в побегах проростков риса происходило кратковременное двукратное увеличение уровня свободной СК. При дальнейшем пребывании растений в бескислородной среде уровень свободной формы несколько снижился, но все равно был выше исходного и контрольного значений. Действие реаэрации выражалось в снижении уровня свободной СК до контрольных аэробных значений. В корнях риса, как и у пшеницы, существенных изменений уровня свободной формы СК под действием аноксии и последующей реаэрации не происходило. Аккумуляция свободной СК в побегах риса при аноксии сопровождалась снижением уровня связанных форм и увеличением экспрессии гена *OsICSI*, кодирующего фермент биосинтеза СК изохоризматсинтазу. Более длительное воздействие (24 ч) стимулировало экспрессию *Os4BGlu13*, кодирующего бета-гликозидазу 13, а также семейство генов *OsPAL*, кодирующего фенилаланинаммиаклиазы. Можно отметить разную динамику экспрессии гена для побегов и корней, у последних изменения были менее интенсивными. Возвращение кислорода в среду привело к восстановлению уровней экспрессии до контрольных у генов *OsICSI* и *Os4BGlu13* и, в ещё большей степени, стимулировало накопление транскриптов *OsPAL*. Следовательно, аккумуляция свободной формы СК в побегах проростков риса происходила за счёт стимуляции синтеза по изохоризмат-синтазному пути, по крайней мере, при коротких сроках нахождения в бескислородной среде, а также за счёт гидролиза конъюгатов бета-гликозидазой 13, что сопровождалось снижением содержания связанной формы. С другой стороны, стимуляция экспрессии генов *OsPAL* под действием длительной аноксии и реаэрации скорее отражает повреждение тканей растения, хотя полностью исключать вклад фенилаланинаммиаклиаз в синтез СК также нельзя.

Предобработка проростков экзогенной СК приводила к понижению уровня перекисного окисления липидов (ПОЛ) и продукции перекиси водорода в проростках пшеницы в условиях реаэрации. Выход электролитов из корней проростков уменьшался на 10%, в то время как из побегов – не изменялся. Тест на жизнеспособность по восстановлению тетразолиевых красителей показал большую сохранность предобработанных растений в условиях аноксии и последующей реаэрации. Таким образом, на неустойчивое к дефициту кислорода растение СК оказывала защитное действие. На проростки риса обработка СК оказывала иное воздействие. Уровень ПОЛ в проростках увеличивался, а продукция перекиси водорода почти не изменялась. Выход электролитов из клеток корней возрастал на 10%, а в побегах, наоборот, – уменьшался на 5%. Тетразолиевый тест не выявил изменений в жизнеспособности, связанных с обработкой СК.

Следовательно, у растения, устойчивого к данному виду стресса, дополнительное внесение гормона не оказывало положительного эффекта по сравнению с неустойчивым. Вероятно, характерный для риса высокий эндогенный уровень СК может быть связан с его устойчивостью к кислородной недостаточности и последующему окислительному воздействию. Для подтверждения этого предположения был проведен анализ эндогенного уровня СК в тканях дикорастущих растений-гидрофитов. Повышенный уровень СК выявлен у 18 из 47 исследованных видов водных растений, особенно в 2016 г., который отличался повышенным уровнем водоёмов Ленинградской области. Среди аккумулирующих СК гидро- и гигрофитов выявлены 4 двудольных и 14 однодольных растений, преимущественно представители семейств Яснотковые, Злаки, Ароидные, Рдестовые и Рогозовые. Выдвинуто предположение о связи повышенного содержания СК в тканях побега и устойчивостью растения к кислородной недостаточности.

Исследования поддержаны грантами РФФИ 15-04-03090 и 16-04-00743.



## Морфогенез *in vitro* и генетическая стабильность регенерантов *Rhododendron mucronulatum* под действием тидиазурина

Зайцева Ю.Г., Асбаганов С.В., Новикова Т.И.

Центральный сибирский ботанический сад СО РАН. Золотогорная ул., 101, Новосибирск, Россия.  
[ulianna\\_zaitseva@mail.ru](mailto:ulianna_zaitseva@mail.ru)

*Rhododendron mucronulatum* Turcz. – морозостойкий декоративный листопадный кустарник, произрастающий на территории Китая, Кореи и Дальнего Востока. *R. mucronulatum* является ценным генетическим ресурсом, поскольку обладает рядом уникальных признаков для селекции новых форм и сортов, таких как зимостойкость, высокая полиморфность окраски венчика, продолжительное цветение. Благодаря накоплению фенольных соединений, эфирных масел, аскорбиновой кислоты и других биологически активных веществ *R. mucronulatum* применяется в медицине как лекарственное растение, обладающее противокашлевым, фунгицидным, антиоксидантным, антимикробным и противовоспалительным действием, а также используется при лечении некоторых осложнений диабета. В последние годы высокая антропогенная нагрузка привела к сокращению численности *R. mucronulatum* в естественных ареалах. Привлечение технологий *in vitro* является наиболее эффективным подходом для массового размножения этого вида, сохранения и восстановления его ресурсной базы. Более того, культивирование изолированных клеток, тканей и органов позволит моделировать процессы морфогенеза *in vitro*, оценивать генетическую стабильность микроклонов, разрабатывать эффективные протоколы микроразмножения, используемые в дальнейшей селекции, а также для разработки систем получения ценных вторичных метаболитов. Одним из наиболее эффективных триггеров морфогенеза в культуре *in vitro* представителей рода *Rhododendron*, является производное фенилмочевины – тидиазурон (ТДЗ), существенно повышающий регенерационную способность клеток эксплантов. Однако побочным эффектом действия этого синтетического регулятора роста является появление у регенерантов ряда морфофизиологических аномалий, препятствующих укоренению и адаптации *ex vitro*, в связи с чем возникает вопрос оценки влияния ТДЗ на генетическую стабильность регенерантов. В настоящей работе представлены возможные пути преодоления негативных эффектов ТДЗ на основе анализа влияния этого регулятора роста на регенерационный потенциал эксплантов и последующей оценки генетической стабильности регенерантов *R. mucronulatum* с помощью RAPD, ISSR маркеров и проточной цитометрии.

В качестве эксплантов использовали одноузловые сегменты побегов, изолированные от микроклонов *R. mucronulatum*, содержащихся 2 пассажа на безгормональной среде Андерсона (АМ0). Испытывали два способа обработки: (1) непосредственное культивирование на ТДЗ-содержащей АМ (0,1 мкМ; 0,25 мкМ; 0,5 мкМ; 1,0 мкМ; 2,5 мкМ) в течение 8 недель с последующим переносом на АМ0 еще на 6 недель и (2) 4-х часовую импульсную обработку ТДЗ (7,5 мкМ, 15,0 мкМ или 30,0 мкМ) с последующим культивированием на АМ0 в течение 8 недель. Генетическую вариабельность регенерантов, полученных под действием 0,1, 0,5, 2,5 и 30,0 мкМ ТДЗ оценивали с использованием RAPD и ISSR праймеров. Содержание ДНК и размер генома определяли с помощью проточного цитофлуориметра CyFlow® Space (Partec, Германия), ядра экстрагировали коммерческим буфером и окрашивали йодидом пропидия по методике компании Partec. В качестве стандарта с известным содержанием ДНК использовали листья *Pisum sativum* L. 'Страд' (2С = 9,09 пг).

Установлено, что при культивировании эксплантов на ТДЗ-содержащих средах частота морфогенного ответа снижалась с увеличением концентрации ТДЗ в среде. Максимальный уровень регенерации (80%) и число побегов на эксплант (в среднем 10,22) получили под действием 0,1 мкМ ТДЗ. При этом регенеранты представляли собой конгломераты укороченных, сросшихся между собой побегов. Культивирование таких регенерантов на АМ0 способствовало их элонгации. Импульсная обработка ТДЗ с последующим культивированием на АМ0 позволила увеличить частоту регенерации до 83-97%. При таком способе обработки повышение концентрации ТДЗ до 30,0 мкМ, напротив, увеличило как интенсивность пролиферации, так и высоту регенерантов. Так, максимальное число побегов на эксплант (в среднем 5,48), причем без угнетения элонгации (высота 13 мм), получено после импульсной обработки 30,0 мкМ ТДЗ. Таким регенерантам не требовалась дополнительная элонгация, что существенно (на 6 недель) сократило сроки микроразмножения.

RAPD- и ISSR-PCR фрагментный анализ геномной ДНК выявил 89-96% генетическую идентичность исходного растения и регенерантов, полученных под действием различных концентраций ТДЗ. С помощью проточной цитометрии впервые для *R. mucronulatum* определено содержание ДНК (2С = 1,316 ± 0,025 пг). Ранжирование содержания ДНК у регенерантов в зависимости от концентрации ТДЗ составило от 1,267 до 1,316 пг/2С. Все исследуемые регенеранты по содержанию ДНК оказались идентичны исходному растению, за исключением регенерантов, полученных под действием 0,5 мкМ ТДЗ, однако эти различия были на уровне 3,6%.

Таким образом, использование низких концентраций ТДЗ (0,1 мкМ) или 4-х часовой импульсной обработки этим регулятором роста (30,0 мкМ) позволяет увеличить частоту регенерации, стимулировать элонгацию побегов *R. mucronulatum*, минимизируя проявление аномалий развития, сократить сроки микроразмножения и получить растения генетически идентичные материнскому. Использование более высоких концентраций и длительной экспозиции ТДЗ для индукции морфогенеза может вызвать генетические изменения у регенерантов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 17-04-00782

## Выявление методами многомерного статистического анализа ведущих факторов биохимической адаптации микроклонов вейгелы при стрессах, вызванных повышенным содержанием в культуральной среде морской соли и ионов меди

Землянухина О.А. \*, Калаев В.Н. \*, Воронина В.С. \*, Карпеченко Н.А. \*\*, Вепринцев В.Н. \*\*, Карпеченко И.Ю. \*\*

\* ФГБ ОУВПО "Воронежский государственный университет" (ФГБОУ ВО «ВГУ»), 394006, г Воронеж, пл. Университетская, д 1, Россия +7(473)2208876  
[oz54@mail.ru](mailto:oz54@mail.ru)

\*\* Филиал ФБУ «Рослесозащита» - ЦЗЛ Воронежской области, 394087, г.Воронеж, ул.Ломоносова, 105  
[veprintsev-vn@yandex.ru](mailto:veprintsev-vn@yandex.ru)

Вейгела цветущая «вариегата» (*Weigela florida* «*Variegata*» Bunge A.D.C.) – отлично зимующий в условиях 4 зоны зимостойкости декоративный кустарник, отличающийся желтой каймой на листьях. Целью работы было получение адаптированных к солевому и медному стрессам растений, выращенных в условиях *in vitro*. Микроклональное размножение осуществляли в стеблевой культуре на стандартной среде ½ WPM, дополненной 0.2 мг/л БАП + 0.1 мг/л ГАЗ. Укоренение проводили на безгормональной питательной среде того же состава. Методом ПЦР с использованием 6 олигопраймеров показана полная идентичность микроклонов вейгелы в большой выборке маточным растениям открытого грунта. Укорененные микроклоны подвергались трехступенчатой адаптации: 10 суток на полудетальных концентрациях NaCl (130 mM) и CuCl<sub>2</sub> (0.075 mM) с последующим переносом на контрольные среды для восстановления. Стрессовые условия повторяли трижды на тех же самых растениях. В процессе адаптации проводили измерения содержания пролина, белка, а также активности ферментов: пероксидаза (ПО; КФ 1.11.1.7), глюкозо-6-Ф-дегидрогеназа (гл.-6-Ф-ДГ; КФ 1.1.1.49), NADH-дегидрогеназа (NADH-ДГ; 1.6.99.1) изоцитратлиаза (ИЦЛ; КФ 4.1.3.1), изоцитратдегидрогеназа (ИДГ; КФ 1.1.1.42), малатдегидрогеназа (МДГ; КФ 1.1.1.37), малик энзим (МЭ; КФ 1.1.1.39). Факторный анализ в ходе вычисления главных компонент позволил выявить компактную систему из четырех основных факторов, отражающих 98,68% дисперсии системы фермент – тип эксперимента (вместо исходного 6-мерного пространства свойств). Первым фактором является метаболическая локализация ферментов. Так, NADH-малатдегидрогеназа и NAD-малик энзим работают в цикле трикарбоновых кислот, протекающим внутри митохондрий, как и фермент NADH-дегидрогеназа, локализованный на внешней стороне внутренней митохондриальной мембраны. Изоцитратлиаза функционирует вне глиоксисом, в цитоплазме и влияет на сохранение баланса между сукцинатом и изоцитратом, связывая ЦТК с метаболизмом глицина и серина через глиоксилат. Фермент глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа функционирует в окислительной ветви пентозо-фосфатного цикла. Внецикловый фермент пероксидаза принимает участие в регуляции окислительно-восстановительного баланса клетки. Вторым фактором является действие солевого стресса: ферменты по-разному реагируют на засоление на разных этапах адаптации. Так, активность ПО возрастает в 1.3 раза, повышение активности сохраняется на протяжении всего опыта. Активность гл.-6-Ф-ДГ в 1 пассаже снижается в 2.5 раза, а к концу 3-его поднимается до уровня контроля. NADH-ДГ в 1 пассаже повышается в 1.4 раза, а к концу эксперимента сравнивается с контролем. Влияние соли не сказывается на активности ИЦЛ ни на одном из этапов исследования. На активности МДГ и МЭ влияние соли оказывается действенным только при долгосрочном стрессе: на 1 пассаже разницы между опытными и контрольными растениями не обнаруживается, влияние сказывается к концу эксперимента. При этом, хотя активность МДГ возрастает почти в 10 раз за 120 суток, она, тем не менее, ниже в 1.4 раза в сравнении с контролем. Активность МЭ, наоборот, снижается в 5.3 раза, оставаясь ниже контрольных значений в 3 пассаже в 2.6 раза. Третьим фактором являются культуральные условия *in vitro*, оказывающие влияние на онтогенетические процессы. Так, по мере онтогенетического взросления в контрольных растениях увеличивается активность NADH-дегидрогеназы (в 1.9 раз), изоцитратлиазы (в 5.4 раза) и малатдегидрогеназы (в 12.3 раза), а активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы снижается в 1.8 раза, малик энзима – в 2 раза. Активность пероксидазы остается на постоянном уровне. Четвертым фактором является влияние тяжелых металлов, а именно ионов меди. При этом активность пероксидазы во время 1 пассажа увеличивает активность в 1.9 раза, снижаясь до уровня контроля по мере адаптации. Фермент гл.-6-Ф-ДГ значительно снижает активность (в 3.7 раза) в первом пассаже, сравниваясь с контролем к концу эксперимента. Активность NADH-ДГ не зависит от влияния ионов меди ни на одном из этапов эксперимента. Наоборот, активность ИЦЛ возрастает в 2 раза в 1 пассаже, снижаясь до контрольных значений к 120 суткам. Ионы меди ингибируют активность МДГ на первом этапе в 2.4 раза, а к концу эксперимента удельная активность МДГ снижается более чем в 14 раз по сравнению с контролем. Сопряженный фермент малик энзим на начальных этапах адаптации оказался не подвержен действию стрессового фактора. К концу эксперимента его активность, как и в контроле, снижалась, но была значительно ниже (в 7.5 раз). Выводы в пользу получения хорошо адаптированных растений подтверждаются колебаниями в содержании свободного пролина, которое в ходе долговременной адаптации снижается ниже контрольных значений, приближаясь к уровню пролина у маточных растений в открытом грунте. Маркерными для определения процесса и степени адаптации древесных растений являются два фермента – изоцитратлиаза и глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназа в сочетании с определением содержания свободного пролина.

**Влияние пониженного водного потенциала субстрата на параметры водного обмена модифицированных по PIP аквапоринам растений *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.**

Зубей Е.С.

Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф.Купревича НАН Беларуси. Академическая ул., 27, Минск, Беларусь

[katya.zubej@yandex.by](mailto:katya.zubej@yandex.by)

Исследовали параметры морфоструктуры и водообмена мезофилла листьев растений *Arabidopsis thaliana* дикого типа и генетически модифицированных (knockout и сверхэкспрессоры аквапоринов PIP1 и PIP2) в условиях нормального водообеспечения и пониженного водного потенциала (ВП) субстрата.

Модификация экспрессии единичных генов аквапоринов не приводит к появлению ярко выраженных фенотипов растений *A. thaliana*, однако обнаружены различия параметров водообмена и морфоструктуры мезофилла. У модифицированных растений время сохранения максимального тургора мезофилла (ВСМТ) в процессе дегидратации отличалось от дикого типа (Wt): у сверхэкспрессоров превышало от 12 до 78 %, максимальное – у сверхэкспрессора *pip2;2-23*. У knockout растений ВСМТ ниже, чем у Wt, на 28-55 %, минимальное – у knockout *pip2;1-2*. Этот параметр характеризует период, в течение которого потоки воды из клеток и внутрь клеток из насыщенного водой апопласта равны, объем мезофилла стабилен. Следовательно, вклад аквапоринов подгруппы PIP2 в поступление воды в клетки мезофилла более значимый, чем PIP1. Скорость устьичной водоотдачи у растений со сверхэкспрессией PIP1 была ниже, чем у дикого типа, на 24 и 44%, наименьшая – у сверхэкспрессора *pip1;1-4*. Также более низкой скоростью устьичной водоотдачи обладали knockout растения *pip1;4-2* и *pip2;2-4*. Вероятно, активность PIP1 аквапоринов вносит наибольший вклад в регуляцию тургора замыкающих клеток устьиц, причем разные изоформы регулируют поступление либо выход воды.

Скорость дегидратации мезофилла в диапазоне от максимального тургора до начала циторриза у knockout *pip1;2-2* превышала значение Wt на 26 %. Предполагаем участие аквапорина *pip1;2-2* в удержании воды в ткани после потери ею тургора. Скорость изменения объема мезофилла в процессе дегидратации у knockout PIP2 была ниже, чем у Wt: на 22 % у knockout *pip2;1-2* и на 19 % у *pip2;2-4*.

Knockout-мутанты и сверхэкспрессоры PIP1 и PIP2 и растения Wt выращивали в условиях пониженного ВП субстрата: -16, -20, -30 кПа (контроль –ВП -4 кПа, влажность субстрата 65-70%).

В условиях нормального водообеспечения растения-сверхэкспрессоры *pip2;2-23* характеризовались самым высоким показателем влажности ткани листа при максимальном тургоре (на 14 % выше, чем Wt). У сверхэкспрессоров доля воды, не контролируемой тургором, была в 10 раз ниже, чем у Wt, а эластичность ткани листа выше на 8-10 %. Это свидетельствует о повышении гигроморфности ткани листа при сверхэкспрессии аквапоринов. У модифицированных растений был снижен показатель жесткости ткани листа, минимальным он был у сверхэкспрессора *pip2;2-23* (на 28% ниже Wt).

У knockout растений объем межклетников мезофилла был на 21 % ниже, чем у Wt. У knockout *pip1;4-2* количество сухого вещества на единицу площади листа было на 50 % больше, чем у Wt. При сверхэкспрессии *pip2;2-23* этот показатель превышал Wt на 17 %. Вероятно, работа аквапорина *pip1;4-2* увеличивает оводненность ткани листа, либо увеличение доли аквапоринов подгруппы PIP2 по отношению к PIP1 приводит к снижению оводненности мезофилла.

Модифицированные растения показали различную толерантность к водному стрессу. При ВП субстрата -30 кПа сохраняли жизнеспособность только растения Wt. Наибольшую чувствительность показали растения-сверхэкспрессоры, *pip2;2-23* развивались только в контрольных условиях и при ВП -16 кПа.

При выращивании в условиях пониженного ВП субстрата у растений Wt увеличивалось ВСМТ на 52-65 %, максимальное значение – при -20 кПа. У растений-сверхэкспрессоров в условиях водного дефицита ВСМТ сокращалось на 32 - 34 % при ВП -16 кПа, и на 52 % при ВП -20 кПа. У knockout-растений при пониженном ВП субстрата ВСМТ было в 2-2,8 раза выше, чем в условиях нормального водообеспечения. Наибольшим этот параметр был у knockout *pip2;1-2* при ВП -20 кПа, превышая показатель Wt, выращенного при аналогичном ВП. Вероятно, в условиях водного дефицита отсутствие или снижение количества некоторых изоформ PIP аквапоринов приводит к увеличению водоудерживающей функции ткани листа и / или снижению оводненности ткани, что способствует большей устойчивости растений к водному стрессу.

При пониженном ВП скорость устьичной водоотдачи у Wt снижалась до 20% (при -30 кПа), у knockout изменялась несущественно, у сверхэкспрессоров увеличивалась. Максимально (на 60 %) относительно растений, выращенных в контрольных условиях, этот параметр возрос у сверхэкспрессора *pip1;1-4* при ВП -20 кПа. Это также свидетельствует в пользу участия PIP1 аквапоринов в регуляции водного обмена устьичного аппарата.

При выращивании в условиях водного дефицита у растений Wt, knockout *pip1;4-2* и сверхэкспрессора *pip1;1-4* возрастала скорость дегидратации ткани мезофилла; у сверхэкспрессора *pip2;2-23* изменялась недостоверно. У knockout *pip2;1-2* скорость водоотдачи снижалась, и при ВП -20 кПа была на 26% ниже, чем у растений, выращенных в контрольных условиях. Следовательно, у растений с отсутствием аквапорина *pip2;1-2* в условиях водного стресса повысилась устойчивость ткани мезофилла к обезвоживанию.

## Адаптивные изменения жирнокислотного состава липидов хвойных в условиях вегетации

Иванова М.В., Суворова Г.Г.

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН. ул. Лермонтова, 132, Иркутск, Россия  
[omaria-84@yandex.ru](mailto:omaria-84@yandex.ru)

Начальные этапы реакции клеток на действие различных стрессоров связывают с изменением состояния мембран клеток и деградацией липидов. Изменения температуры воздуха в природных условиях вызывают изменения в составе жирных кислот липидов, что определяет уровень текучести мембранных липидов и таким образом способствует процессу выживания клеток. Особую роль при этом играют преобразования ненасыщенных жирных кислот. Несмотря на большое внимание, уделяемое в настоящее время изучению мембранных липидов растительных клеток, многие вопросы межвидовых различий ЖК состава, изменения его от факторов среды и взаимосвязи липидного обмена у растений с их фотосинтетической активностью остаются малоизученными. Особенно важным является изучение этих особенностей у растений, произрастающих в экстремальных условиях Сибири, где природные и климатические условия представляют собой природную лабораторию для проведения подобных исследований.

Целью работы являлось сравнительное изучение состава и динамики жирных кислот липидов хвои в связи с фотосинтетической активностью у доминирующих видов хвойных Восточной Сибири - сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.), ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.), лиственницы Гмелина (*Larix gmelinii* Rupr.) и лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.) в период вегетации.

В составе ЖК суммарных липидов хвои исследуемых видов хвойных наибольший суммарный вес составляли пальмитиновая (C16:0) (12-28% от суммы всех ЖК), олеиновая (C18:1 $\omega$ 9) (5-17%), линолевая (C18:2 $\omega$ 6) (7-22%) и  $\alpha$ -линоленовая (C18:3 $\omega$ 3) (14-45%) ЖК. Динамика содержания пальмитиновой кислоты в хвое *P. sylvestris* и *P. obovata* имела сходную тенденцию. В хвое *L. gmelinii* и *L. sibirica*  $\alpha$ -линоленовой кислоты содержалось в 1,5-2 раза больше, чем в хвое *P. sylvestris* и *P. obovata*.

Анализируя межвидовые особенности в динамике содержания ПНЖК липидов хвои исследуемых хвойных, выявили одинаковую тенденцию для *P. sylvestris* и *P. obovata*, которая колебалась в течение вегетации. Динамика содержания ПНЖК липидов хвои *L. gmelinii* и *L. sibirica* в течение вегетации была практически неизменной.

Анализ сезонной динамики содержания  $\Delta$ 5 UPIFA липидов хвои в период вегетации показал, что наибольшее содержание указанных ЖК для *P. sylvestris* и *P. obovata* наблюдалось в весенний и осенний периоды вегетации. Для *L. gmelinii* было показано наибольшее содержание  $\Delta$ 5 UPIFA липидов хвои в августе и сентябре, для *L. sibirica* – в сентябре. Высокое содержание этих кислот в липидах хлоропластных мембран связано с адаптацией растений к низким температурам.

Для ЖК липидов хвои *L. sibirica* и *L. gmelinii* была показана меньшая взаимосвязь отдельных ЖК с климатическими факторами среды в исследуемый период вегетации. У *P. sylvestris* и *P. obovata* большее количество отдельных ЖК липидов хвои проявляют высокую степень взаимосвязи с климатическими факторами среды.

За каждый месяц вегетации наибольшая продуктивность фотосинтеза в пересчете на площадь хвои отмечена у *P. sylvestris*. В результате анализа выявили, что в исследуемый период вегетации проявляется корреляционная связь между ЖК липидов хвои и суммарной за месяц продуктивностью фотосинтеза. У *P. sylvestris* эта взаимосвязь проявилась для C20:2 $\omega$ 9 ЖК ( $r=-0.76$ ,  $p=0.045$ ), у *L. gmelinii* - с C20:3 $\Delta$ 5,9,12 ЖК. У *L. sibirica* такая взаимосвязь была показана для нескольких ЖК: C16:1 $\omega$ 5 ( $r=-0.99$ ,  $p=0.009$ ), Izo-C17:0 ( $r=-0.97$ ,  $p=0.028$ ), с ленолевой (C18:2 $\omega$ 6) ЖК ( $r=-0.99$ ,  $p=0.01$ ) и бегеновой (C22:0) ЖК ( $r=-0.95$ ,  $p=0.046$ ). У *P. obovata* взаимосвязь содержания ЖК липидов хвои с месячной продуктивностью фотосинтеза не прослеживалась.

Полученные результаты позволяют предположить участие ЖК липидов хвои в адаптации фотосинтетического аппарата четырех видов хвойных к климатическим условиям юга Восточной Сибири. Представленные данные для исследуемых видов хвойных на территории юга Восточной Сибири получены впервые.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ, проект № 16-34-00412.

## Влияние кратковременных ежесуточных понижений температуры на фотосинтез и дыхание листьев огурца, пораженных ложной мучнистой росой

*Икконен Е.Н., Шерудило Е.Г.*

ФГБУН Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск  
[likkonen@gmail.com](mailto:likkonen@gmail.com)

Ложная мучнистая роса является распространенным инфекционным заболеванием растений, вызываемым оомицетами - грибоподобными организмами из семейства пероноспорных (*Peronosporaceae*). Патогенная колонизация тканей сельскохозяйственных растений подавляет основные процессы жизнедеятельности растений и приводит к значительной потере урожая. В данной работе исследовали возможность использования кратковременных понижений температуры как экологически безопасный прием, снижающий негативное действие патогенной инвазии на процесс фотосинтеза и дыхания растений. Для этого растения огурца (*Cucumis sativus* L., гибрид Кураж F1), пораженные в начале своего роста ложной мучнистой росой, подвергали кратковременному (2 ч) ежесуточному (13 суток) действию низкой температуры (8°C, 4°C или 1°C; ДРОП-воздействие, от англ. *drop* – падение).

Результаты показали, что спустя более чем 2 недели после проникновения зооспор патогена в растительные ткани, на листьях огурцов, не подвергавшихся ДРОП-воздействиям, были явно различимы некротические пятна, а скорость видимого фотосинтеза ( $A_n$ ), устьичная проводимость и темновое дыхание ( $R_d$ ) листьев снизились соответственно на 60, 70 и 50%. Ингибирование в результате поражения растений ложной мучнистой росой в большей степени фотосинтеза, чем дыхания, нарушило сбалансированность этих двух процессов, что проявилось в увеличении более чем в 3 раза соотношения  $R_d/A_n$  на уровне листа. Закрытие устьиц пораженных растений вызвало снижение на 25% содержания  $CO_2$  в межклеточном пространстве. Величина светового компенсационного пункта уменьшилась в результате патогенной инвазии на 60% несмотря на снижение интенсивности митохондриального дыхания, как в темноте, так и на свету ( $R_l$ ). Соотношение  $R_l/R_d$  у пораженных растений, не подвергавшихся действию ДРОП, было ниже, чем у здоровых, почти в 2 раза, что отражает существенное увеличение степени ингибирования светом их митохондриального дыхания. Снижение интенсивности дыхания листьев пораженных растений было обусловлено полным ингибированием альтернативного пути дыхания.

В результате действия ДРОП на растения огурца, пораженные ложной мучнистой росой, процесс фотосинтеза, функционирование устьичного аппарата и дыхание листьев у них восстанавливались до уровня близкого или равного таковому у здоровых растений. Однако степень восстановления функционирования перечисленных процессов зависела от температуры действия ДРОП. Так эффект от ДРОП-воздействий температурой 8°C был менее выражен, чем действие ДРОП температурой 4°C или 1°C. На листьях пораженных, но подвергавшихся действию ДРОП растений не наблюдалось некротических пятен, что может служить косвенным свидетельством отсутствия фазы спорообразования и незаконченности жизненного цикла патогена. Восстановление в результате действия ДРОП дыхания листьев пораженных растений происходило благодаря активизации митохондриального потока электронов через альтернативную оксидазу. Кроме того, усиление дыхания сопровождалось снижением степени его ингибирования светом, что косвенно подтверждает нормализацию работы фотосинтетического аппарата и митохондриально-хлоропластных отношений. Следует отметить, что ДРОП-воздействия способствовали снижению соотношения  $R_d/A_n$  у пораженных растений, однако не до уровня здоровых. Видимо, связано это с не абсолютно полным восстановлением фотосинтеза и с ростом дыхательных потребностей в интермедиатах и энергии в результате действия низкой температуры.

Таким образом, результаты показали, что действие ДРОП может способствовать восстановлению физиологического состояния пораженных ложной мучнистой росой растений огурца, что выражалось в способности поддерживать ими высокую функциональную активность фотосинтетического и устьичного аппаратов, а также дыхательного метаболизма, что необходимо для их успешного роста и развития. Можно предположить, что благоприятное действие ДРОП на пораженные растения связано со сдерживанием низкой температурой развития и распространения патогена или с кросс-адаптацией растений к стрессовым факторам различной природы. В настоящее время ведется активный поиск методов контроля над распространением ложной мучнистой росы. С одной стороны они должны быть направлены на уничтожение патогена и получение высокого урожая, а с другой стороны не должны влиять на качество продукции и состояние окружающей среды. В отличие от химических методов борьбы, основным недостатком которых является токсичное загрязнение всех уровней фитоценоза, прием, рассмотренный в данной работе, не оказывает какой-либо негативной нагрузки на среду выращивания растений.

Работа выполнена с использованием оборудования Центра коллективного пользования научным оборудованием Института биологии КарНЦ РАН в рамках государственного задания (№ темы 0221-2014-0032) и частично поддержана РФФИ (проект № 14-04-00840\_а).

## Устойчивость растений к недостатку цинка: современные представления и первоочередные задачи исследований

*Казнина Н.М., Батова Ю.В., Лайдинен Г.Ф., Титов А.Ф.*

ФГБУН Институт биологии Карельского научного центра РАН. Пушкинская ул., 11, Петрозаводск, Россия  
[kaznina@krc.karelia.ru](mailto:kaznina@krc.karelia.ru)

Цинк является одним из основных микроэлементов для растений. Он входит в структуру или активирует более 300 ферментов, играющих важную роль в клеточном метаболизме; является обязательным компонентом целой группы транскрипционных факторов, участвующих в белок-белковых и РНК-белковых взаимодействиях; необходим для синтеза предшественника ИУК – триптофана и защиты липидов клеточных мембран от перекисного окисления и т.д. Вследствие многообразия и важности выполняемых им функций, дефицит цинка вызывает серьезные нарушения в жизнедеятельности растений и может приводить к значительному (до 80%) снижению их продуктивности. Учитывая, что более 50% территорий в мире, используемых для выращивания сельскохозяйственных культур, имеют почвы с низким содержанием цинка или его слабой доступностью, устранение этого недостатка является важной проблемой агробиологии. Длительное время ее решали в основном за счет внесения высоких доз минеральных удобрений, что во многих случаях вело к резкому увеличению концентраций цинка в почве, вплоть до токсичных для растений. Поэтому в настоящее время более предпочтительным считается иной путь решения данной проблемы – выявление генотипов с высокой устойчивостью к дефициту цинка и создание на их основе новых сортов. Однако успешное решение этой задачи требует более глубокого знания и понимания механизмов, лежащих в основе данного признака.

Согласно современным представлениям, устойчивость растений к недостатку цинка обеспечивается целым рядом механизмов, действующих на разных уровнях организации – от молекулярного до организменного. Условно их можно разделить на две группы: а) механизмы, направленные на улучшение поглощения этого элемента из почвы и активизацию его транспорта по растению и б) механизмы, обеспечивающие поддержание активности основных физиологических процессов в условиях дефицита цинка за счет его эффективного использования. К настоящему времени относительно неплохо изучены механизмы, относящиеся к первой группе. В частности обнаружено, что более устойчивые к недостатку цинка растения отличаются активным синтезом корневых эксудатов с высокой концентрацией различных хелаторов цинка (органические кислоты, аминокислоты, фитосидерофоры), способствующих лучшему поступлению металла в клетки. Кроме того, у них выявлен повышенный уровень экспрессии генов ряда белков-транспортеров, осуществляющих перенос  $Zn^{2+}$  через плазмалемму в цитоплазму клеток (ZIP1/3/4/9, IRT1 и др.) и/или в сосуды ксилемы (HMA2/4), а также через тонопласт (HMA3, MTP1/3), обеспечивая создание «запаса» цинка в вакуолях. Но, как было показано в ряде исследований, активизация (тем или иным образом) процессов поглощения и транспорта цинка не является единственным способом повышения устойчивости растений к его дефициту. По-видимому, не менее важную роль может играть активизация механизмов, обеспечивающих эффективность использования цинка растением, которые пока почти не изучены. Известно лишь, что устойчивые к недостатку металла генотипы некоторых культурных злаков (пшеница, рис) способны даже в условиях сильного дефицита цинка поддерживать в листьях высокую активность таких важных цинксодействующих ферментов, как карбоангидраза и Cu/Zn супероксиддисмутаза. Причем, как оказалось, неустойчивые генотипы характеризуются гораздо меньшей активностью этих ферментов при таком же количестве цинка в их листьях.

Таким образом, анализ литературы показывает, что несмотря на определенные успехи, достигнутые в этой области физиологии растений, многие аспекты рассматриваемой проблемы по-прежнему остаются слабо или совсем не изученными и, следовательно, требуют новых исследований. Среди них:

- восприятие и передача сигнала о недостатке цинка в растениях;
- регуляция экспрессии генов, участвующих в адаптации растений к недостатку цинка;
- механизмы, обеспечивающие у устойчивых к дефициту цинка растений эффективную работу цинксодействующих ферментов и транскрипционных факторов;
- влияние недостатка цинка на структуру и функции клеточных мембран у устойчивых и неустойчивых к дефициту этого микроэлемента растений;
- влияние недостатка цинка на гормональную систему растений;
- механизмы, обеспечивающие поддержание у устойчивых к недостатку цинка растений необходимого уровня основных физиологических процессов (фотосинтез, дыхание, водный обмен и др.), что является обязательным условием формирования высокой продуктивности даже при достаточно выраженном дефиците этого микроэлемента.

На наш взгляд, поиск и нахождение ответов на эти и некоторые другие вопросы обеспечит существенный прогресс в этой области знаний.

## Адаптивные возможности древесных растений в условиях вулканических ландшафтов

Копанина А.В., Власова И.И., Тальских А.И., Вацерионова Е.О.

Институт морской геологии и геофизики Дальневосточного отделения РАН, ул. Науки 1Б, г. Южно-Сахалинск  
[iivlasova@gmail.com](mailto:iivlasova@gmail.com)

Южные Курильские острова – район современной активной вулканической деятельности. Особые экстремальные условия для произрастания древесных растений имеют место в ландшафтах газогидротермальных полей. Произрастание растений, формирование растительных группировок и целых сообществ в таких условиях во многом зависит от микроклиматических условий, толерантности растений к агрессивной среде (высоким концентрациям токсичных серосодержащих газов, тяжелых металлов, высоким температурам в корнеобитаемом слое субстрата и др.). Воздействие на растения газогидротермальных источников является локальным, но радиус влияния может увеличиваться за счет повышения интенсивности выброса пара и серосодержащих газов, а также прохождения туманов и дождей. Спектр жизненных форм древесных растений, произрастающих в условиях газогидротермальных источников определяют, прежде всего, зональность, высота над уровнем моря и интенсивность газогидротермальной деятельности. В случае, когда газогидротермальные поля располагаются вблизи к кратеру вулкана (для Курильских островов это диапазон высот 400-1200 м над уровнем моря) на границе полей встречаются кустарнички и стланички. С увеличением высоты над уровнем моря (верхний предел распространения древесной растительности) у многих видов древесных растений (главным образом кустарников) происходит трансформация жизненной формы, которая сопровождается уменьшением высоты скелетных осей и из заглублением в субстрат, усилением ветвления и увеличением продолжительности жизни листьев. Сходные процессы наблюдаются у древесных растений, формирующих границу распространения вокруг котлов газогидротермальных источников.

Настоящее исследование представляет сравнительный анализ по данным анатомии коры адаптивных возможностей различных биоморф древесных растений (кустарников, кустарничков и лиан) к ландшафтам газогидротермальных полей вулкана Менделеева (остров Кунашир, Южные Курильские острова). Образцы древесных растений собраны авторами как в условиях газогидротермальных полей, так и в типичных местообитаниях. В исследовании проанализированы молодые и скелетные (надземные и подземные) стебли: *Vaccinium hirtum* Thunb. (кустарник), *Vaccinium praestans* Lamb. (стланичек) взяты в елово-широколиственном бамбучниково-кустарниково-папоротниковом сообществе у газогидротермальных выходов Нижнедокторских термальных источников вулкана Менделеева; *Menziesia pentandra* Maxim. (кустарник) – в елово-пихтовом кустарниково-бамбучниковом лесу у газогидротермальных выходов Нижней группы источников ручья Кислый; *Gaultheria miqueliana* Takeda (кустарничек) – в кедровостланниково-бамбучниковом сообществе вблизи газогидротермальных котлов на побережье термального озера Овальное; *Toxicodendron orientale* Greene (лиана) – в елово-широколиственном бамбучниково-кустарниково-папоротниковом лесу по берегам газогидротермальных выходов в верхнем течении ручья Докторский (Верхнедокторская группа). Подготовка растительных образцов разновозрастных стеблей (в том числе тканей коры), изготовление постоянных препаратов (срезов стеблей поперечного, тангентального и радиального направлений) и их анализ методами световой микроскопии выполнен по стандартным методикам и на современном оборудовании лаборатории экологии растений и геоэкологии ИМГиГ ДВО РАН. Структурный экологический анализ выполняется нами на основе классических аналитических подходов, принятых в ксилотомии, и в соответствии с современными рекомендациями Международной ассоциации анатомов древесины (The International Association of Wood Anatomists – IAWA), в том числе по изучению анатомии коры древесных растений.

Анализ структурных признаков тканей коры исследованных видов показал, что реакция тканей связана с их физиологической активностью и ролью в онтогенезе древесного растения. Целый ряд параметров изменяются разнонаправлено у древесных растений разных жизненных форм в течении всего онтогенеза (общая ширина коры, ширина перидермы, ширина паренхимы первичной коры). Выявлено, что адаптивный ответ на экстремальные условия газогидротермальных источников формирует вторичная флоэма у всех исследованных видов. Сравнительный анализ, также показал, что присутствует специфика в реакции на действие среды ювенильных и дефинитивных тканей коры. Структурная реакция молодых стеблей реализована в элементах вторичной и, в том числе, проводящей флоэмы. Выявлено увеличение объема флоэмных лучей и общей ширины вторичной флоэмы. С возрастом структурный отклик коры стеблей изменяется – некоторые показатели вторичной флоэмы напротив уменьшаются в экстремальных условиях вулканических ландшафтов. Похожая тенденция выявлена в перидерме исследованных видов. Следует отметить, что при переходе скелетных осей кустарничков и стланичков из наземной среды в подземную структурных отклик изменяется (показатели перидермы, непродводящей флоэмы), что, вероятно, связано с изменением комплекса напряженных факторов в почве. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости оценки структурного отклика на экстремальные факторы среды с учетом становления тканей в онтогенезе вида. Различная физиологическая активность тканей и их функциональные аспекты в молодом возрасте и в «зрелом», вероятно, определяет их различный адаптивный потенциал.

Работа выполнена в рамках государственного задания ИМГиГ ДВО РАН, а также при поддержке РФФИ (грант № 5-04-04774).

## Эколого-физиологические характеристики видов произрастающих на приливно-отливной зоне Белого моря

*Кособрухов А.А., Марковская Е.Ф.\**

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, г. Пущино, Московской области, ул. Институтская 2, Россия,  
тел.: (4967) 31-29-88 Факс: (4967)33-05-32.

[kosobr@rambler.ru](mailto:kosobr@rambler.ru)

\*Петрозаводский государственный университет, эколого-биологический факультет, г. Петрозаводск, пр. Ленина,  
33

В работе исследован  $\text{CO}_2$  газообмен ( $P_n$ ), интенсивность транспирации, проводимость устьиц и содержание пигментов, а так же проведен анализ углекислотных кривых фотосинтеза на 3 видах растений галофитов: облигатных – лебеды, *Atriplex nudicaulis* Vogusl и осоки, *Carex salina* Wahlenb; факультативных – лисохвоста *Alopecurus arundinaceus* Poig, произрастающих в естественных условиях на супралиторали Поморского побережья Белого моря. Наиболее высокий  $P_n$  отмечен у лисохвоста и лебеды, скорость транспирации - у осоки, у нее же наиболее высокие значения устьичной проводимости и внутренней концентрации  $\text{CO}_2$ . У лисохвоста и осоки более высокие значения содержания хлорофиллов, но их соотношения различаются и более высокая доля хл *a* отмечается у лебеды, а наиболее низкая у осоки, для которой характерны и высокий процент пигментов в ССК. Данные по соотношению хла/хл*b* и содержанию ССК свидетельствуют о высоких значениях ССК на один реакционный центр у осоки по сравнению с растениями лебеды и лисохвоста. Результаты аппроксимации углекислотных кривых  $\text{CO}_2$  газообмена листьев растений супралиторали с использованием модели Фаркьюхара показали, что потенциальная скорость фотосинтеза выше у лисохвоста и лебеды, а у осоки ниже. Эти виды различаются и по активности реакций темновой стадии фотосинтеза: для осоки и лебеды отмечены высокие значения максимальной скорости карбоксилирования; для лебеды максимальные значения эффективности этого процесса. Скорость транспорта электронов выше у лисохвоста и лебеды. Для лисохвоста характерны высокие значения скорости утилизации триозофосфатов и более высокий углекислотный компенсационный пункт. По-видимому, значительное снижение потенциальной скорости фотосинтеза растениями осоки связано с низкой активностью световой стадии фотосинтеза - скоростью транспорта электронов в электрон транспортную цепь хлоропластов.



**Фитохромная регуляция стресс-устойчивости фотосинтетического аппарата высших растений***Креславский В.Д.\*\*\*, Ширшикова Г.Н.\*, Худякова А.Ю.\*\*\*, Шмарев А.Н.\*, Любимов В.Ю.\**

\*ФГБУН Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, Россия;  
[vkreslav@rambler.ru](mailto:vkreslav@rambler.ru)

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

Устойчивость к окислительному стрессу, вызванному действием факторов окружающей среды, является одним из важных параметров, характеризующих состояние фотосинтетического аппарата (ФА). Известен ряд механизмов адаптации ФА к развитию окислительного стресса. Ранее мы предположили, что в регуляции некоторых из этих механизмов адаптации ФА к стрессовым факторам может участвовать фитохромная система. С использованием мутанта *Arabidopsis thaliana* с дефицитом фитохрома В *hy3* было обнаружено, что дефицит фитохрома В приводит к снижению устойчивости фотосистемы 2 к УФ-А радиации. Однако, часто в фотоморфогенетических процессах, которые регулируются фитохромом участвует и другой ключевой фитохром – фитохром А. Поэтому было проведено детальное исследование влияния УФ-В радиации на фотосинтетические процессы в растениях арабидопсиса дефицитных одновременно по ФхА и ФхВ (двойной мутант, ДМ) по сравнению с растениями дикого типа (ДТ) и мутантом *hy3*. Растения выращивали в контролируемых условиях под светом белых люминесцентных ламп или красных светодиодов при интенсивности света 130 мкмоль квантов м<sup>-2</sup> с<sup>-1</sup> с фотопериодом 12 ч или 16 ч. Растения кратковременно (0.5-2 ч) облучали УФ-В, используя различные дозы (2-7 кДж м<sup>-2</sup>). Затем с помощью РАМ-флуориметрии и ЛР-теста оценивали активность фотосистемы 2 (ФС-2), определяя максимальный и эффективный квантовые выходы фотосистемы, а также содержание Q<sub>В</sub>-невосстанавливающих комплексов в реакционном центре ФС-2 и измеряли скорость фотосинтеза (P<sub>n</sub>) растений. Измеряли также содержание фотосинтетических и УФ-поглощающих пигментов (УФПП), активность аскорбатпероксидазы и содержание H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в листьях 14 и 25-дн. растений. Дефицит фитохромов приводил к снижению содержания фотосинтетических пигментов и УФПП, а также к снижению скорости фотосинтеза при насыщающей интенсивности света. Так содержание каротиноидов и хлорофиллов *a* и *b* у 25-дн. растений ДМ (фотопериод 12 ч) было на 20-25% ниже, а УФПП в 3.5 раза меньше, чем у ДТ. Скорость фотосинтеза была ниже на 32%. При этом активность ФС-2 не изменялась. Однако, выращивание растений на красном свете (максимум 660 нм), когда фоторецепторы синего света, поглощающие свет до 500 нм (криптохромы) не активны, приводило к заметному снижению активности ФС-2 у ДМ, но не у ДТ. Обнаружено, что устойчивость ФС-2 и фотосинтетического аппарата, в целом, к УФ-В ниже у ДМ по сравнению с растениями ДТ, выращенными как на белом, так и на красном свете. Разница между ДТ и мутантом *hy3* была менее выражена. Меньшая устойчивость ДМ согласуется с большей индуцированной УФ-В генерацией H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в листьях ДМ по сравнению с ДТ. Особенно заметная разница в снижении скорости фотосинтеза и показателей фотохимической активности ФС-2 в результате действия УФ-В обнаружена у ДТ и ДМ растений, выращенных на красном свете. Растения ДМ были также менее устойчивы к фотоингибированию, оцененному при облучении растений светом высокой интенсивности (1000 мкмоль квантов м<sup>-2</sup> с<sup>-1</sup>, 30 мин), чем ДТ. Сделано заключение, что устойчивость ФА к УФ-В и свету высокой интенсивности в значительной степени зависит как от наличия ключевых у растений фитохромов А и В, так и фоторецепторов синего света криптохромов. Предполагается, что пониженная устойчивость ДМ к УФ-В и фотоингибированию по сравнению с ДТ является следствием пониженного содержания у мутанта УФПП и каротиноидов, а также пониженной активности ряда антиоксидантных ферментов, таких как аскорбатпероксидаза. Исследовано восстановление ФС-2 после УФ-В облучения в различных световых условиях (красный, синий и белый свет низкой интенсивности). Обнаружено, что скорость пост-стрессового свето-индуцированного восстановления ФС-2 одинакова у ДТ и ДМ, что означает, что восстановление ФС-2 не зависит от состояния фитохромной системы. На основе ранее полученных и выше приведенных результатов предлагается схема выращивания растений с повышенной активностью фитохромов и криптохромов, что по нашим данным должно приводить к более высокой устойчивости ФА к действию УФ-радиации и света высокой интенсивности. Работа поддержана грантом РФФИ №15-04-01199а.

## Рост трансгенных растений табака с конститутивной экспрессией генов глутатионсинтазы рапса и глутатион-S-трансферазы *Arabidopsis thaliana* при действии стрессовых факторов

Кулueв Б.Р., Бережнева З.А., Постригань Б.Н., Князев А.В.

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, проспект Октября, 71, 450054, г. Уфа, Россия  
[kuluev@bk.ru](mailto:kuluev@bk.ru)

Растения в ходе роста и развития постоянно подвергаются воздействию многочисленных стрессовых факторов, наиболее распространенными из которых являются засуха, холод и засоление. В результате воздействия этих неблагоприятных факторов среды в клетках растений увеличивается продукция активных форм кислорода (АФК), которые при больших концентрациях оказывают негативное воздействие на все жизненно важные процессы в клетке. В ответ на выработку АФК в растениях активируется система антиоксидантной защиты, важнейшим компонентом которой является глутатион и связанные с ним многочисленные ферменты, из которых наиболее известны глутатион-S-трансферазы (GST). Глутатион – это трипептид  $\gamma$ -глутамилцистеинилглицин, биосинтез которого осуществляется в две стадии. На первой стадии, катализируемой глутамилцистеиниллигазой, из глутаминовой кислоты и цистеина образуется  $\gamma$ -глутамилцистеин. Присоединение к дипептиду глицина катализируется глутатионсинтазой (GS). Так как GS является вторым из двух ключевых ферментов в биосинтезе глутатиона можно предполагать, что при повышении активности этого фермента может увеличиваться содержание глутатиона и повышаться устойчивость растений к широкому кругу стрессовых факторов. На сегодняшний день большинство опубликованных работ по исследованию GS и GST связаны с изучением устойчивости растений к тяжелым металлам и ксенобиотикам. Однако глутатион принимает участие в ответе растительного организма на многие стрессовые факторы, включая засуху, холод и засоление. Особенности проявления GS и GST в трансгенных растениях зависят от выбранного для переноса гена, от промотора, особенностей векторной конструкции, а также от вида и сорта хозяйского растения. Целью нашей работы было создание трансгенных растений табака *Nicotiana tabacum* L. с конститутивной экспрессией гена *BnGSH*, кодирующего глутатионсинтазу рапса *Brassica napus* L. и гена *AtGST*, кодирующего глутатион-S-трансферазу *Arabidopsis thaliana* L. Также была поставлена задача провести морфологический анализ полученных растений при нормальных условиях и при действии таких стрессовых факторов, как засуха, засоление и низкие положительные температуры.

Методом агробактериальной трансформации было создано 17 линий трансгенных растений табака содержащих ген *BnGSH* рапса под контролем 35S промотора. Трансгенность анализируемых растений была доказана методом ПЦР и гистохимического анализа активности репортерного гена *GUS*. Используя метод количественной ОТ-ПЦР в реальном времени, были отобраны 12 линий трансгенных растений характеризующихся высоким уровнем экспрессии гена *BnGSH*. Морфологический анализ трансгенных растений заключался в измерении высоты стебля, площади листьев, длины цветков, сырого и сухого веса побега, длины корней, как при нормальных условиях, так и при действии стрессовых факторов. Часть трансгенных растений табака характеризовалась улучшенными параметрами роста при выращивании в нормальных условиях и при действии NaCl. При нормальных условиях было обнаружено увеличение сырого и сухого веса трансгенных растений, по сравнению с диким типом. На вертикально-ориентированных чашках Петри на агаризованной среде МС было показано увеличение длины корней у трансгенных растений при действии 50 и 100 мМ NaCl. В то же время трансгенные растения табака не отличались повышенной устойчивостью к действию засухи и низких положительных температур.

При помощи генно-инженерной конструкции 35S::*AtGST* было создано 22 линии трансгенных растений. Исходя из результатов количественного ОТ-ПЦР в реальном времени, были отобраны 9 линий трансгенных растений характеризующихся высоким уровнем экспрессии гена *AtGST*. При нормальных условиях произрастания трансгенные растения характеризовались увеличением сырого и сухого веса побегов по сравнению с диким типом. На вертикально-ориентированных чашках Петри с агаризованной средой МС было показано улучшение параметров роста корней у трансгенных растений при действии NaCl (50 и 100 мМ) и низких положительных температур (+12 и +15°C). При выращивании на почве в условиях засухи (полив – один раз в неделю), засоления (100 мМ NaCl) и действия низких положительных температур (+12 и +15°C) трансгенные растения отличались от растений дикого типа увеличением сухого и сырого веса побега.

Полученные в ходе работы результаты исследования позволяют делать выводы о положительном влиянии глутатион-S-трансфераз на рост растений не только в условиях загрязнения среды тяжелыми металлами и ксенобиотиками, что хорошо известно из литературных данных, но и при действии таких абиотических стрессовых факторов, как засуха, засоление и низкие положительные температуры. Апробированную на табаке генно-инженерную конструкцию 35S::*AtGST* планируется использовать для трансформации хозяйственно-ценных растений.

**Пространственно - временные вариации основных составляющих углеродного цикла мерзлотных лесных экосистем Северо-востока России***Максимов Т.Х., Максимов А.П., Кононов А.В., Петров Р.Е., Терентьева М.П.*Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН  
[tcmx@mail.ru](mailto:tcmx@mail.ru)

В 2000-2015 гг. нами исследованы основные составляющие углеродного цикла репрезентативных лесных экосистем на Северо-востоке России (SakhaFluxNet). Для проведения этих междисциплинарных исследований использован широкий круг микрометеорологических, биогеохимических, физиологических и биохимических методик с применением современного научно- инновационного инструментального оборудования и приборов.

Дано эколого-биологическое обоснование средообразующей роли основной породы дерева якутского сектора криолитозоны – *Larix sajanderi*. Проанализирован большой объем экспериментального материала, необходимого для понимания основных составляющих углеродного обмена растений и экосистемы. Обсуждаются вопросы межгодовых вариаций составляющих углеродного цикла в зависимости от гидротермических условий вегетационного периода и биоклиматических зон, оценен региональный и глобальный баланс углерода. Всевозможные интерпретации по региональному, континентальному и глобальному циклу углерода, независимо от методических подходов, в конечном счете сводятся к структурно-функциональной взаимосвязи в жизнедеятельности растений. Исследования проводились в средне- и высокопродуктивных лиственничных экосистемах Якутии.

По результатам исследований показано, что кривая суточного хода  $\text{CO}_2$  на обеих природных зонах имеют куполообразные формы с максимумом поглощения  $\text{CO}_2$  в 10-12 часов и максимумом выделения  $\text{CO}_2$  в ночное время (между 2-3 часами). Максимальные величины поглощения  $\text{CO}_2$  лесными экосистемами в течение суток составляют в Центральной Якутии до  $-10-12$  мкмоль  $\text{CO}_2 \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$  и в Юго-Восточной Якутии до  $-16-17$  мкмоль  $\text{CO}_2 \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ . Форма суточного хода углекислотного газообмена не зависит от широты и практически синхронизирована в меридиональном направлении. Продолжительность фотосинтеза в течение вегетационного периода составляют в Центральной Якутии – 113 дней и в Южной – 120 дней.

По многолетним эдди-корреляционным данным, величина чистого газообмена экосистемы (NEE) в таежных экосистемах Центральной Якутии превышает таковую Южной в 1,5 раза. Годовое поглощение углерода в лиственничном лесу Центральной Якутии составляет  $2,12 \pm 0,34$  т  $\text{C} \cdot \text{га}^{-1} \cdot \text{год}^{-1}$ , а в лиственничных лесах Юго-Восточной Якутии –  $2,43 \pm 0,23$  т  $\text{C} \cdot \text{га}^{-1} \cdot \text{год}^{-1}$ . Средняя разница между сезонными суммами NEE двух таежных участков составила  $0,39$  т  $\text{C} \cdot \text{га}^{-1}$  за вегетационный период. В то же время, отмечено одновременное двойное превышение величин эмиссии углекислого газа почвами и  $7,91$  т  $\text{C} \cdot \text{га}^{-1} \cdot \text{год}^{-1}$  в Южной Якутии против  $3,54$  т  $\text{C} \cdot \text{га}^{-1} \cdot \text{год}^{-1}$  в Центральной Якутии. Гидротермические условия этих участков примерно одинаковы, за исключением небольшого превышения количества осадков в Южной Якутии.

В зависимости от гидроклиматических условий вегетационного периода наблюдаются большие межгодовые вариации в поглощении углерода в экосистемах, особенно в зоне с резко континентальным климатом (Центральная Якутия). Резкое увеличение атмосферных осадков после продолжительных 2-3 годовых засух приводит к сильному всплеску фотосинтетической деятельности лесных растений почти в 2,5 раза. И наоборот, продолжающаяся стабилизация и увеличение осадков отрицательно сказывается на фотосинтетической функции растений и даже некоторому его ингибированию. Все это связано с морфологическими, физиологическими и биохимическими особенностями основных лесобразующих пород, произрастающих в условиях многолетней мерзлоты, где отрицательный и положительный вклад надмерзлотной воды весьма ощутим.

На основе изучения 899 видов растений из 100 участков (от Арктики до тропиков) создана новая глобальная база данных GlobResp по темновому дыханию растений, частью которой являются результаты исследований темнового дыхания лиственницы, сосны и березы в таежной экосистеме Центральной Якутии. Показано, что при естественных температурах на участках, темновое дыхание растений возрастает всего лишь в два раза в направлении от Арктики к тропикам, хотя температура роста при этом возрастает на 20 градусов. В то же время, темновое дыхание при стандартной температуре в  $25$  °C три раза выше в Арктике чем в тропиках, и в два раза выше на сухих участках по сравнению с влажными местообитаниями.

## Состояние воды и биохимический состав почек древесных растений при перезимовке в условиях Севера

Малышев Р.В., Табаленкова Г.Н., Розенцвиг О.А.,\* Богданова Е.С.\*

ФГБУН Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН. Коммунистическая 28,  
Сыктывкар, Россия

\*Институт экологии Волжского бассейна РАН. Комзина, 10, Тольятти, Россия  
[tabalenkova@ib.komisc.ru](mailto:tabalenkova@ib.komisc.ru)

Подзона средней тайги на европейском Северо-Востоке России характеризуется умеренно-континентальным климатом с холодной и продолжительной зимой. Видовой состав древесных растений Республика Коми представлен 101 видом, из них только 45 пригодны для озеленения. Для расширения ассортимента древесных растений, используемых в озеленении северных городов необходимо привлечения видов из других флористических районов. Решающим фактором, определяющим успешность культивирования инорайонных пород, является тепловой режим вегетационного периода и, в первую очередь, минимальные температуры, которые могут переносить интродуценты. Особо чувствительны к низким температурам меристематические ткани почек листопадных деревьев и кустарников наиболее часто используемых для озеленения. Сохранение их жизнеспособности во многом связано с изменениями и содержанием внутриклеточной воды и биохимическими превращениями в меристемах при действии низких температур. Однако, несмотря на достигнутые успехи в области изучения холодостойкости и морозоустойчивости древесных растений, причин гибели или выживания в зимний период не теряют своей актуальности. Целью настоящей работы было выявить физиолого-биохимические механизмы адаптации почек древесных растений при перезимовке в условиях Севера. Модельными объектами были выбраны представитель местной флоры - *Betula pendula* Roth и интродуценты *Syringa josikaea* Jacq., *Aronia melanocarpa* (Michx) Elliott и *Acer campestre* L. В условиях Ботанического сада Института биологии (вблизи Сыктывкара) *S. josikaea* и *A. melanocarpa* зимой подмерзают редко и характеризуются достаточно высокой зимостойкостью, менее устойчив *A. campestre*. Вегетативные почки отбирали в осенне-зимний и весенний период 2015-2016 гг.

За период ноябрь-январь существенных изменений в линейных размерах почек не было выявлено, что косвенно может указывать на состояние глубокого покоя. Содержания воды в почках *B. pendula* не превышало 45 %, оводненность почек интродуцентов на 10-15% выше. Доля замерзающей воды в январе составляла около половины, от общего количества воды. Температура фазового перехода вода-лед в почках варьировала в зависимости от вида в пределах от -11°C...до -8 °C . Весной (март – апрель) температуры замерзания воды в почках исследуемых видов находилась в диапазоне -8.2 до -10 °C. При этом в среднем на 10% возрастала оводненность тканей, достигая 55 % у *B. pendula*, 61, 63, 66% у *S. josikaea*, *A. campestre* и *A. melanocarpa* соответственно. Одновременно с оводненность увеличивалось и количество замерзающей воды в почках, что обусловлено повышением в них содержания несвязанной воды. Способность к формированию криорезистентности является одним из фундаментальных механизмов, определяющих, возможность выживания тех или иных видов в разных ботанико-географических зонах. В осенне-зимний период на фоне торможения роста в почках происходило накопление значительного количества сахаров, выполняющих полифункциональную роль при низкотемпературной адаптации растений и липидов. Причем в почках интродуцентов в 2-3 раза выше содержание углеводов, а в *B. pendula* в 4-7 раз больше липидов. Углеводы представлены в основном фруктозой, глюкозой и сахарозой. В почках *S. josikaea* и *A. melanocarpa* выявлены сахароспирты. Липидный комплекс представлен значительной долей нейтральных липидов (НЛ). Причем в зимующих почках *B. pendula* они составляли 90%, в *A. melanocarpa* и *S. josikaea* около 70%. Доля фосфолипидов составляла 2,5% у *B. pendula*, 10% у *S. josikaea* и 20% у *A. melanocarpa*. Низкие температуры декабря - января приводили к накоплению ненасыщенных жирных кислот особенно линолевой и линоленовой кислот, составляющих в сумме 70 и 87% соответственно. Расчет показал, что линолеил- десатуразное соотношение, характеризующее интенсивность биосинтеза  $\alpha$ -линоленовой кислоты максимально в этот период для почек *B. pendula*. Одними из наиболее широко распространенных в высших растениях метаболитов, обладающим полифункциональным биологическим эффектом считаются свободные аминокислоты. Наибольшим содержанием свободных аминокислот отличались почки *A. campestre*, наименее морозоустойчивого вида, причем около 80% фонда свободных аминокислот приходилось на пролин, который способен значительно уменьшить повреждающее действие низких температур и защищает растение от обезвоживания. С возобновлением ростовых процессов связаны и изменения в биохимическом составе почек. В марте - апреле в среднем на 20% снизилось содержания липидов, в том числе НЛ, и в 2-3 раза количество углеводов. При этом наблюдалось накопление растворимого белка и свободных аминокислот.

Таким образом, изменение метаболизма растения в осенне-зимний период является комплексной адаптивной реакцией, приводящей к повышению морозоустойчивости. Формирование морозостойкости древесных растений основано на снижении оводненности почек, накоплении в них липидных компонентов, сахаров и свободные аминокислоты. Высокий уровень липидов у аборигенного вида способствует поддерживать оптимальное состояние клеточных мембран, а при выходе из состояния вынужденного покоя быстро переходить в фазу роста и развития.

**Использование лекарственных растений для управления развитием микробных биопленок****Маркова Ю.А., Быбин В.А., Живетьев М.А., Семенов А.А., Феранчук С.И. \*, Граскова И.А.**

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Лермонтова ул., 132, Иркутск, Россия;

\*Лимнологический институт, Улан-Баторская ул, 3, Иркутск, Россия

[juliam06@mail.ru](mailto:juliam06@mail.ru)

Растения накапливают в своих тканях мощный арсенал защитных веществ, необходимых для выживания в непредсказуемых условиях окружающей абиотической среды и в агрессивном соседстве с патогенными бактериями и вирусами. В этой связи изучение антимикробного потенциала растительных организмов является практически значимым для человечества (Nascimento, 2014). Особое внимание уделяется лекарственным растениям, которые по определению считаются наиболее насыщенными биологически активными соединениями. Нами были изучены следующие виды: подбел многолистный (*Andromeda polyfolia*), манжетка городковатая (*Alchemilla subcrenata*) и вероника дубравная (*Veronica chamaedrys* L.). Они были собраны в районе южного побережья оз. Байкал. Проведен химический анализ водного, 40 и 70 % спиртового экстрактов. Установлено, что содержание сахаров, фенольных соединений и флавоноидов практически не различалось в зависимости от способа экстракции. Все экстракты сравнивали по действию на выживаемость и биопленкообразование *Escherichia coli* XLI-Blue, *Pectobacterium carotovorum* и *Klebsiella pneumoniae*. Оценку выживаемости бактерий проводили с помощью диско-диффузионного метода. Установлено, что экстракты всех исследованных растений обладали разной степенью антимикробного действия. Наиболее эффективным был 70 % спиртовой экстракт манжетки, причем наиболее чувствительной оказалась *P. carotovorum*. Установлено, что экстракты подбела подавляли прирост суспензии клеток пектобактерии, тогда как их эффект на *E. coli* был несущественным. Изучение влияния экстрактов данного растения на образование биопленок, в том числе *K. pneumoniae*, показало их стимуляцию водными экстрактами, тогда как пробы, полученные путем спиртовой экстракции, снижали плотность биопленки по сравнению с контрольным вариантом. Экстракты манжетки и вероники ингибировали прирост оптической плотности исследуемых видов бактерий - что согласуется с антимикробным действием экстрактов этих растений - но стимулировали образование биопленок.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что экстракты лекарственных растений, особенно обладающие антимикробным действием, как правило, стимулируют образование бактериальных биопленок. При этом спиртовой экстракт подбела многолистного (*Andromeda polyfolia*) перспективен для дальнейшего изучения, так как он может содержать компоненты, неблагоприятно воздействующие на процесс биопленкообразования. Работа поддержана интеграционной программой «Фундаментальные исследования и прорывные технологии как основа опережающего развития Байкальского региона и его межрегиональных связей».

## Регуляция онтогенеза растений пектиновыми полисахаридами

*Михайлова Е.А., Шубаков А.А.*

ФГБУН Институт физиологии Коми НЦ УрО РАН, 167982, ул. Первомайская, д. 50, ГСП-2, г. Сыктывкар, Россия  
[elkina@physiol.komisc.ru](mailto:elkina@physiol.komisc.ru)

Обеспечение оптимального роста и развития растений с помощью природных биорегуляторов представляет собой одно из важных направлений исследований в физиологии растений. Пектиновые полисахариды выполняют множество функций в растении: определяют прочность, растяжимость и пористость клеточной стенки, обеспечивают заряд на ее поверхности с помощью модулирования рН и ионного баланса; служат «цементирующим» материалом, объединяющим клетки; влияют на прорастание семян и рост клеток; предохраняют растения от высыхания и вымерзания, усиливая их засухоустойчивость и морозостойкость; защищают растения от поражения фитопатогенами. В этой связи представляется весьма актуальным выяснение роли пектинов в регуляции роста и развития растений на разных этапах онтогенеза.

Проведенный скрининг более 60 пектинов, выделенных из различных растений Республики Коми: ряски малой *Lemna minor* L., рдеста плавающего *Potamogeton natans* L., сабельника болотного *Comarum palustre* L., бадана толстолистного *Bergenia crassifolia* L., борщевика Сосновского *Heracleum sosnowskyi* Manden., пижмы обыкновенной *Tanacetum vulgare* L., донника лекарственного *Melilotus officinalis* L., хвои кедрового *Pinus sibirica* L., лиственницы сибирской *Larix sibirica* L., ели сибирской *Picea obovata* Ldb., а также пектина из интактного растения и каллусной ткани смолевки обыкновенной *Silene vulgaris* (M.) G., показал, что обработка семян водными 0,002%-ными растворами пектинов способствует прорастанию семян и росту проростков, но наибольшее влияние на повышение всхожести семян, ускорение их прорастания, рост корней и побегов овощных культур, зерновых культур, многолетних трав оказывают следующие пектины: лемнан из ряски малой и силенан из каллусной ткани смолевки обыкновенной. Линейный яблочный пектин (положительный контроль) оказывает наименьшее действие.

При этом найдено, что пектины из разных растений отличаются по степени и характеру влияния на прорастание семян растений. Можно предполагать, что это связано с различиями в молекулярных размерах и в особенностях структуры пектиновых полисахаридов. Урожайность томатов и огурцов, обработанных разветвленными пектинами: лемнаном и силенаном, – заметно увеличивается по сравнению с контролем, что также подтверждает предположение о важности величины молекулярной массы и разветвленности макромолекулы пектиновых полисахаридов в их влиянии на онтогенез растений.

В результате наших исследований установлено, что пектины оказывают стимулирующее действие на всхожесть, прорастание семян, рост и развитие растения и способствуют увеличению урожая сельскохозяйственных культур.

## Использование трансгенных растений семейства *Brassicaceae* в модельных системах по исследованию процессов гибридизации

Михайлова Е.В., Денисов А.М.\*

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, проспект Октября, 71, 450054, г. Уфа, Россия

\*Башкирский государственный университет, ул. Заки Валиди, 32, 450076, г. Уфа, Россия

[mikhele@list.ru](mailto:mikhele@list.ru)

Гибридизация играет важную роль в видообразовании у Капустных, а также в их селекции. Трансгенный рапс *Brassica napus*, устойчивый к гербицидам, уже на протяжении многих лет широко используется для оценки возможности переноса трансгенов к родственным растениям и их закрепления в диких популяциях. Благодаря этим исследованиям собран значительный объем данных, позволяющий по-новому взглянуть на гибридизацию рапса с родственными видами и дальность распространения пыльцы. Наличие селективного признака позволяет быстро и эффективно отбирать гибридные проростки, тогда как высокое сходство большинства видов семейства *Brassicaceae* на ранних стадиях развития не позволяет в достаточной мере изучать гибридизацию в естественных условиях без использования трансгенных растений.

Известно, что на частоту гибридизации Капустных влияют генотип родительских растений, а также их соотношение и расположение на исследуемом участке. Например, если перекрестноопыляемое растение вида *B. rapa* оказывается единичным сорняком в рапсовом поле, гибридными могут оказаться до 93% его семян. Но наиболее эффективно применение трансгенных растений при изучении гибридизации дальних родственников, например, рапса и горчицы *Sinapis arvensis*. Согласно последним данным, в естественных условиях гибридными оказывались не более 0,0001% семян горчицы. Это означает, что для получения достаточного количества гибридов необходимы масштабные эксперименты и последующий селективный отбор. Такой отбор может осуществляться только если в качестве донора пыльцы использовалось трансгенное растение.

Следует отметить, что случаи, когда рапс выступает в качестве акцептора пыльцы, изучаются гораздо реже, поскольку не существует коммерчески доступных трансгенных растений других видов семейства *Brassicaceae*, кроме *B. napus* и *B. rapa*. Совсем мало данных о переопылении между другими видами. Их гибриды получают в основном в лаборатории, с использованием эмбриональной культуры, что позволяет сохранять зародыши, которые не смогли бы развиваться в естественных условиях. Этот метод не позволяет получить представление о том, как часто скрещиваются виды в природе, и используется в основном в селекции, для получения новых сортов с полезными признаками. Таким образом, трансгенные растения являются наилучшими модельными объектами для изучения внутривидовой и межвидовой гибридизации. С их помощью можно оценить реальную частоту переопыления растений семейства *Brassicaceae* в естественных условиях. Однако, устойчивые к гербицидам Капустные являются хотя и удобным и привычным, но не самым лучшим вариантом модельного растения. В качестве селективного агента, помимо гербицида, можно также использовать и различные антибиотики, такие как гигромицин и канамицин, вызывающие у нетрансгенных проростков Капустных, семена которых были обработаны раствором антибиотика перед посадкой, хлороз семядолей или первых настоящих листьев. Устойчивость к этим селективным агентам встречается во многих доступных бинарных векторах, применяемых для агробактериальной трансформации растений. Их использование обеспечивает более высокую экологическую безопасность эксперимента, тогда как устойчивость к гербицидам может давать растениям конкурентные преимущества в агроценозах при определенных условиях.

Получение большого количества трансгенных растений не представляет проблемы для Капустных. Практически все виды этого семейства могут быть успешно трансформированы методом погружения цветков *in planta* («floral dip»). Следует отметить, что для поиска гибридов можно использовать трансгенные растения первого поколения, которые составляют в среднем от 2 до 10% семян из обработанных соцветий.

Следующей ступенью в усовершенствовании модельных систем по исследованию процессов гибридизации у Капустных могло бы стать использование генов, способствующих появлению антоциановой окраски, сверхэкспрессия которых приводила бы к появлению синего или красного цвета листьев или цветков трансгенных растений и позволяла бы визуально отбирать трансформанты, не прибегая к дополнительным обработкам. При этом полученные растения обладали бы улучшенными потребительскими свойствами. Такие генно-инженерные конструкции уже нашли применение для получения декоративных растений (в частности, петунии и розы) с синими цветками.

Таким образом, использование трансгенных растений с различными селективными генами может существенно расширить представление о гибридизации у Капустных, в том числе об эволюционных процессах, а также об экологической безопасности возделывания ГМ-культур.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ мол\_a (16-34-00404).

**Обнаружение и исследование липидных рафтов в мембранах клеточных органелл галофитов***Нестеров В.Н., Нестеркина И.С. \*, Нурминский В.Н. \*, Богданова Е.С., Озолина Н.В. \*, Розенцвет О.А.*

Институт Экологии Волжского бассейна РАН, ул. Комзина, 10, Тольятти, Россия

\*Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, ул. Лермонтова, 132, Иркутск, Россия  
[nesvik1@mail.ru](mailto:nesvik1@mail.ru)

В последнее время произошли существенные изменения в фундаментальных знаниях о строении и функциональной роли клеточных мембран. Всё больше появляется доказательств, что мембраны имеют сложную организацию и состоят из доменных структур (рафтов), состав которых зависит от функциональных особенностей мембран и от условий, в которых приходится осуществлять свою жизнедеятельность организм. По определению рафты – это специфические области мембраны, плавающие на поверхности липидного бислоя. Среди липидов рафтов преобладают стеринны, сфинголипиды и глицеролипиды с насыщенными жирными кислотами. Рафтовые микродомены обнаружены в плазмалемме, тонопласте и митохондриальных мембранах животных и растительных клеток.

Известно, что рафты участвуют в передаче клеточных сигналов, оказывают влияние на стабильность мембран, на обмен белков в мембране. Исследования мембран клеток показали непосредственное участие рафтов в ключевых клеточных процессах, таких как мембранная поляризация, клеточный транспорт, ответ на воздействие патогенов. Предполагается непосредственное вовлечение рафтов в процессы роста клеток и морфогенеза. Далеко не все функции рафтов известны, однако на основании существующих экспериментальных данных можно утверждать, что рафты регулируют биологическую активность клеточных и субклеточных мембран, а значит и клетки в целом. Цель работы состояла в поиске и исследовании рафтов в мембранах органелл, обеспечивающих ключевые физиологические процессы растительной клетки, такие как фотосинтез и дыхание, на примере высших растений галофитов, контрастных по стратегии соленакопления. Задачей исследования было обнаружение рафтов и доказательство их присутствия в мембранах митохондрий и хлоропластов, основываясь на данных липидного анализа.

Объектом исследования были выбраны дикорастущие галофиты соленакапливающего типа – *Salicornia perennans* Willd., *Halocnemum strobilaceum* Vieb., и соленепроницаемого типа – *Artemisia santonica* L., собранные в районе соленого оз. Эльтон (Волгоградская область) в июне 2016 г. Климатические условия территории характеризуются резким недостатком влаги, сильной засушливостью в вегетационный период, засоленностью почвогрунтов. Растительный материал – листья галофитов замораживали в жидком азоте, где и хранили до начала анализов. Выделение клеточных фракций хлоропластов и митохондрий осуществляли методом дифференциального центрифугирования. Выделение и поиск рафтов проводили по методике, разработанной на базе Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН в лаборатории Физиологии растительной клетки.

Признаками успешного получения рафтов считаются: наличие опалесцирующей зоны в растворе после высокоскоростного центрифугирования в градиенте плотности сахарозы, высокое содержание стериннов и сфинголипидов (цереброзидов) в липидном пуле этой зоны. По таким характерным признакам нами были выделены мембранные рафты из фракций митохондрий и хлоропластов и проанализирован состав их липидов у всех трех видов галофитов. Для сравнения исследовали состав липидов фракций митохондрий и хлоропластов.

В результате анализа состава липидов как фракций митохондрий и хлоропластов, так и детергент устойчивых участков мембран (рафтов) идентифицированы 8 фосфолипидов (ФЛ) – фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилглицерол, фосфатидилинозит, фосфатидная кислота, дифосфатидилглицерол, лизофосфатидилхолин, фосфатидилсерин; 3 галактоглицеролипида (ГЛ) – моногалактозилдиацилглицерин, дигалактозилдиацилглицерин, сульфохиновозилдиацилглицерин; а также цереброзиды (ЦЕР) и стеринны (СТ). Выявлено, что в митохондриальной фракции количественно преобладали ФЛ (до 60% от суммы мембранных липидов), а в хлоропластной – ГЛ (до 70% от суммы мембранных липидов). В митохондриальной фракции отмечен более высокий уровень ЦЕР и СТ (в 2–3 раза), чем в хлоропластной. Доля рафтоспецифичных липидов (ЦЕР+СТ) в рафтах, выделенных из мембран митохондрий составила 74–89 %, а в рафтах, выделенных из мембран хлоропластов, – 27–37 % от суммы мембранных липидов.

Таким образом, по таким характерным признакам как наличие зоны рассеянного света, высокое содержание стериннов и цереброзидов в липидном пуле этой зоны можно заключить, что экспериментально полученные из мембран митохондрий и хлоропластов галофитных растений *S. perennans*, *H. strobilaceum*, *A. santonica* структуры являются стерин- и цереброзид-обогащенными доменами. Физиологическую роль рафтов в клеточных мембранах галофитов еще предстоит выяснить.



## Новые биологически активные средства на основе производных фуллеренов и их влияние на растения

*Панова Г.Г.\**, *Семенов К.Н.\*\**, *Чарыков Н.А.\*\*\**, *Канаиш Е.В.\**, *Артемяева А.М.\*\*\*\**, *Аникина Л.М.\**,  
*Корнюхин Д.Л.\*\*\*\**, *Удалова О.Р.\**, *Хомяков Ю.В.\**

\* Агрофизический научно-исследовательский институт. Гражданский пр., 14, Санкт-Петербург, Россия;

\*\* Санкт-Петербургский государственный университет. Университетский пр., 26, Петродворец, Россия

\*\*\* Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет). Московский пр., 26, Санкт-Петербург, Россия

\*\*\*\* Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова. Ул. Большая Морская, 42-44, Санкт-Петербург, Россия

[gaiane@inbox.ru](mailto:gaiane@inbox.ru)

Высокая потребность АПК в экологически безопасных биodeградируемых препаратах комплексного положительного действия на растения делает актуальным поиск и разработку новых их форм, обеспечивающих транспортировку в растения макро- и микроэлементов и физиологически активных соединений, обладающих свойствами адаптогенов и протекторов. В качестве перспективных источников таких препаратов рассматриваются углеродные наноструктуры - водорастворимые производные фуллеренов  $C_{60}$  и  $C_{70}$ . Они используются в биомедицине и фармакологии благодаря их способности проникать через биомембраны вследствие липофильности и наноразмерам, транспортировать лекарственные вещества к клеткам мишеням, а также антиоксидантным свойствам.

Особенности и механизмы влияния водорастворимых производных фуллеренов на растения в агро- и экосистемах практически не изучены, так как исследовательская работа в данном направлении только начинает активно развиваться. Целью работы явилась оценка влияния водорастворимых производных фуллерена  $C_{60}$  на продукционный процесс растений в регулируемых условиях и их устойчивость к возникновению окислительного стресса. Для проведения исследований нами были синтезированы с применением оригинальной одностадийной методики фуллеренол и аддукты фуллерена  $C_{60}$  с незаменимыми аминокислотами треонином, лизином, аргинином, а также с аминокислотой гидроксипролином. В двух вегетационных экспериментах в регулируемых условиях выявлено стимулирующее влияние испытуемых производных фуллерена на рост и нетто-продуктивность яровой пшеницы и ячменя, что, очевидно, связано с установленной их способностью оказывать значимый регуляторный эффект на синтез фотосинтетических пигментов, на эффективность работы фотосинтетического аппарата растений, а также на работу антиоксидантной системы защиты растений против окислительного стресса. Под влиянием испытуемых производных фуллерена в листьях и/или корнях растений отмечается снижение интенсивности перекисного окисления липидов, генерация активных форм кислорода, увеличение активности супероксиддисмутазы. Указанные изменения в состоянии растений наиболее выражены при действии фуллеренола,  $C_{60}$ треонина и  $C_{60}$ гидроксипролина. В результате, при моделировании стресса устойчивость обработанных растворами  $C_{60}$ треонина и  $C_{60}$ гидроксипролина растений ячменя к действию УФ-В радиации, судя по массе надземной части и корней, была выше на 10-20% относительно контрольных облученных растений, у которых под воздействием стрессора отмечается снижение массы надземной части на ~33%, масса корней - на 10-20%.

Выявленное положительное влияние синтезированных аминокислотных производных фуллерена  $C_{60}$  и фуллеренола на продукционный процесс растений, их устойчивость к возникновению окислительного стресса, высокая эффективность данных веществ в малых концентрациях, и, соответственно, низкая стоимость затрат на их применение, экологическая безопасность свидетельствуют о перспективности дальнейшего изучения механизмов влияния данных веществ на почвенно-растительную систему с целью создания и использования в растениеводстве высокоэффективных препаратов на их основе.

Работа выполнена при поддержке Российского Фонда Фундаментальных исследований: проект № 15-29-05837 офи\_м

**Строгий ответ у *Nicotiana tabacum* и *Pectobacterium atrosepticum* SCRI1043 при формировании патосистемы****Петрова О.Е. \*, Горшков В.Ю. \*\*, Сергеева Ю.П. \*\*, Даминова А.Г. \*, Гоголев Ю.В. \*\*\***

\*Казанский Институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, ул. Лобачевского, 2/31, Казань, Россия;

\*\*Казанский Федеральный Университет, Кремлевская ул., 18, Казань, Россия

[roe60@mail.ru](mailto:roe60@mail.ru)

Принятая ныне эндосимбиотическая гипотеза происхождения хлоропластов предполагает, что эти органеллы возникли в результате симбиоза свободноживущей фотосинтезирующей протобактерии с древней эукариотической клеткой. В процессе коэволюции хозяина и симбионта значительно изменился прокариотический геном: уменьшилась его кодирующая емкость, значительная часть генов была утрачена, большое количество генов мигрировало в ядерный геном клеток хозяина. При этом хлоропласты сохранили основные элементы бактериальных сигнальных путей, которые участвуют в регуляции функций этих органелл. Одним из таких сигнальных путей является «строгий ответ». У прокариот строгий ответ является важнейшей первичной регуляторной системой реагирования на стрессоры, ключевым моментом которого является остановка клеточного деления и образование устойчивых или покоящихся клеточных форм. Медиатором строгого ответа является гуанозин тетрафосфат (ppGpp) – специфическая сигнальная молекула (алармон), который меняет уровень экспрессии бактериальных генов. Динамика ppGpp в бактериальной клетке и растительных хлоропластах определяется функционированием ферментов семейства RelA- SpoT гомологов (RSH), осуществляющих координированный синтез и гидролиз алармона.

В растениях ppGpp функционирует как быстро активирующийся транскрипционный кофактор в условиях абиотического и биотического стресса. Есть предположение, что строгий ответ, реализующийся в пластидах, играет активную роль в защитном ответе растений и взаимоотношениях патоген-хозяин, однако механизм этих процессов не исследован. Учитывая тот факт, что внутренняя среда организма хозяина является стрессорной для микроорганизмов, логично предположить, что при инфекции строгий ответ активируется как у хозяина, так и у патогена. Целью нашего исследования была проверка этого предположения.

В своей работе мы использовали модельную патосистему, включающую фитопатогенную энтеробактерию *Pectobacterium atrosepticum* SCRI1043, вызывающую «мягкие гнили» у представителей семейства *Solanaceae*, и растения табака (*Nicotiana tabacum*). В условиях *in vitro*, имитирующей сапрофитную стадию развития патогена, экспрессия генов *relA* и *spoT*, кодирующих синтазу и бифункциональную синтазу/гидролазу гуанозин тетрафосфата, соответственно, у бактерий индуцировалась в ответ на голодание по углероду, фосфору и/или азоту. При этом в зависимости от количества клеток и их физиологического состояния формировались разнообразные устойчивые клеточные формы, способные длительно персистировать в неблагоприятных условиях, не теряя вирулентности.

Было установлено, что при инфицировании табака клетками *P. atrosepticum* индукция строгого ответа происходила и в клетках бактерий и в тканях табака. У бактерий уровень экспрессии генов строгого ответа существенно повышался в первые часы после инфицирования, что, в целом, соответствует динамике экспрессии этих генов *in vitro*. Транскрипты генов, *Ntrsh1* и *Ntrsh2*, кодирующих гидролазу и синтазу ppGpp, соответственно, и определяющих реализацию строгого ответа у *Nicotiana tabacum*, накапливались в растениях табака до проявления признаков заболевания.

По-видимому, при формировании патосистемы бактериальный строгий ответ является необходимой предпосылкой для реализации вирулентных свойств микроорганизма. У растений же хлоропластный строгий ответ представляет собой первичный отклик на вторжение патогена, запускающий, вероятно, комплекс защитных реакций макроорганизма.

Работа поддержана грантом РФФИ №15-14-10022

## Как трансгенные растения рапса со встроенным геном *Osmyb4* адаптируются к избыточному содержанию $\text{CuSO}_4$ в среде

Ралдугина Г.Н., Кривошеева А.Б., Холодова В.П., Шумкова Г.А., Карташов А.В., Иванов Ю.В., Кузнецов Вл.В.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН. Ботаническая ул., 35, Москва, Россия  
[raldugina42@mail.ru](mailto:raldugina42@mail.ru)

Растения отвечают на действие абиотических и биотических стрессоров дифференциальным изменением экспрессии множества генов, которые контролируются факторами транскрипции (ФТ). Увеличение уровня экспрессии генов ФТ может приводить к повышению устойчивости трансгенных растений. В стрессорный ответ растений вовлекается и ген транс-фактора риса *Osmyb4* (Accession No. Y11414, LOC\_Os04g43680). Рядом авторов было показано, что трансгенные растения, активно экспрессирующие ген *Osmyb4* риса, характеризуются повышенной устойчивостью к низким температурам, засухе, засолению, а также к воздействию ультрафиолета за счет стимуляции экспрессии генов некоторых метаболических путей, в частности, путей синтеза фенилпропаноидных соединений. Нами были получены трансгенные растения (ТР) рапса (*Brassica napus* L.) со встроенным геном *Osmyb4* под индуцируемым промотором pCOR15a, имеющие повышенную холодоустойчивость. Мы предположили, что ТР рапса с геном *Osmyb4* могут обладать повышенной устойчивостью и к другим стрессорам, например, к солям тяжелых металлов (ТМ). Для проверки этого предположения на ТР второго поколения воздействовали  $\text{CuSO}_4$  в различных концентрациях. Было показано, что трансгенные растения рапса с геном *Osmyb4* риса обнаруживали более высокую устойчивость к ТМ по сравнению с нетрансформированными растениями (НТР). При изучении физиологических свойств было установлено, что при воздействии 50 мкМ  $\text{CuSO}_4$  в течение 7 дней накопление биомассы у обеих линий практически не различалось, в то же самое время в условиях действия избытка ионов меди ТР, в отличие от НТР, испытывали менее выраженный окислительный стресс, накапливая МДА в реакции с ТБК в значительно меньших количествах. Также у ТР наблюдалось меньшее накопление пролина и более высокое содержание фотосинтетических пигментов. Кроме того, ТР аккумулировали больше меди, чем НТР. При изучении экспрессии генов, отвечающих за транспорт и хелатирование ионов меди, было показано, что на седьмые сутки относительная экспрессия генов-транспортеров меди HMA5, NRAMP4 и ZIP4 почти не отличалась от контроля, оставаясь на одном и том же уровне. Относительная экспрессия генов MT1a, MT2b, CCS и PCS, отвечающих за хелатирование ионов меди, в некоторой степени понижалась. Таким образом, было показано, что выбранные нами для исследования гены фактически не оказывали решающего влияния на дополнительное накопление меди у ТР в сравнении с НТР. Вполне вероятно, что за этот процесс отвечают другие гены, участвующие в поступлении ионов меди в растение или в перераспределении их между органами растения, что является предметом дальнейших исследований.

**Разнообразие антимикробных полипептидов в семенах черного тмина (*Nigella sativa* L.) - источника антибиотиков нового поколения**

*Рогожин Е.А.*\*, \*\*, *Садыкова В.С.*\*\*

\* Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН. Миклухо-Маклая ул., 16/10, Москва, Россия;

\*\* Научно-исследовательский Институт по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе. Большая Пироговская ул., 11, стр. 1, Москва, Россия  
[rea21@list.ru](mailto:rea21@list.ru)

Проблема поиска новых антибиотиков для борьбы с патогенными формами бактерий и микроскопических грибов в медицине и ветеринарии является наиболее актуальной в последнее время. Часто используемые коммерчески доступные антибиотики демонстрируют достаточно низкую эффективность или ее полное отсутствие по отношению к ряду наиболее значимых и опасных возбудителей болезней человека и животных, как правило, за счет развития приобретенной резистентности на молекулярном уровне, которая позволяет им «уходить» от их действующих веществ, и даже при наличии эффекта ингибирования, быстро восстанавливать динамику своей численности и инфекционный потенциал. За последние полвека растения стали рассматриваться в качестве источников разнообразных биологически активных соединений, обладающих разнообразными свойствами, в том числе и антимикробной активностью. При этом только в середине 90х гг. XX века исследователи в мире обратили внимание на наличие у растений спектра разнообразных антимикробных белков и пептидов, которые являются неотъемлемыми компонентами их врожденного иммунитета к стрессовым факторам биотической природы.

Дикорастущие растения (по сравнению с культурными) традиционно рассматриваются в качестве источников биологически активных макромолекул, в том числе, благодаря которым обуславливается их относительная устойчивость к разнообразным стрессам. Чернушка посевная, или черный тмин (*Nigella sativa*) (семейство Ranunculaceae) – представляет собой эндемичное растение, которое произрастает на территории Ближнего Востока, Центрального и Среднеазиатского регионов; оно активно используется в качестве пряной добавки к хлебобулочным изделиям, а также в традиционной медицине посредством терапии и профилактики различных острых, инфекционных заболеваний, а также онкологических. В рамках нашей работы подробно исследован состав полипептидов, обладающих антимикробными свойствами, из семян черного тмина, выращенного на территории Республики Узбекистан (г. Ташкент). Для выделения и очистки полипептидов была применена многостадийная схема, основанная на их кислотной экстракции из измельченного биоматериала с последующим разделением комбинацией методов жидкостной хроматографии (гидрофобной, аффинной, катионообменной) низкого, среднего и высокого давления. Структурный анализ и определение полных аминокислотных последовательностей выделенных полипептидов осуществляли посредством MALDI-времяпролетной масс-спектрометрии, ферментативного и/или химического гидролиза и N-концевого автоматического секвенирования по методу Эдмана. Антимикробную активность по отношению к спектру штаммов коллекции НИИНА имени Г.Ф. Гаузе устанавливали с использованием диско-диффузионного метода. В результате стоит отметить, что разнообразие антимикробных полипептидов в семенах черного тмина ограничивается представителями семейств растительных дефензинов (три пептида), липид-переносящих белков (1 пептид), тионинов (10 пептидов) и харпино-подобных пептидов (альфа-харпининов) (8 пептидов). Известно, что пептиды из первых трех семейств реализуют свой антимикробный функционал в отношении грибов-микроскопических и бактерий преимущественным образом посредством наличия мембранно-активных свойств, в то время как для альфа-харпининов в целом свойственен статическое действие, причем исключительно по отношению к грибам.

Полученные результаты расширяют имеющиеся знания о разнообразии полипептидов с антимикробными свойствами из дикорастущих растений, а также позволяет рассматривать черный тмин и его терапевтические свойства в качестве основы для разработки антибиотических средств нового поколения.

Данная работа поддержана грантом Российского Фонда Фундаментальных Исследований (проект № 16-34-60217\_мол-а-дк), а также Стипендией Президента Российской Федерации для молодых ученых (регистрационный номер СП-2093.2015.4).

**Алленоксидсинтазная и гидропероксидлиазная ветви пути биосинтеза оксипиринов: новые функции в регуляции первичного метаболизма и защите фотосинтетического аппарата от фотоингибирования**

*Савченко Т.В. \*, Тихонов К.Г. \*, Яныкин Д.В. \*, Хоробрых А.А. \*, Терентьев В.В. \*, Климов В.В. \*, Дехеш К. \*\*, Хейнзел Н. \*\*\*, Роллетшек Х. \*\*\**

\*Институт фундаментальных проблем биологии РАН. Институтская ул., 2, Пущино, Московская область, Россия

\*\*Институт Интегративной Геномной Биологии, Калифорнийский Университет, Риверсайд, Калифорния, 92521, США

\*\*\* Институт Генетики Растений и Исследования Культурных Растений имени Лейбница, Гатерслебен, Германия  
[savchenko\\_t@rambler.ru](mailto:savchenko_t@rambler.ru)

Оксипирины - сигнальные молекулы, которые образуются во всех аэробных организмах. Алленоксидсинтазная (AOS) и гидропероксидлиазная (HPL) ветви – две доминирующие ветви пути биосинтеза оксипиринов у растений. В данной работе были исследованы биологические функции метаболитов алленоксидсинтазной и гидропероксидлиазной ветвей пути биосинтеза оксипиринов в формировании адаптивных ответов растений в условиях абиотических стрессов, включая неблагоприятный световой режим и избыточное обводнение почвы. Для выявления потенциальной роли метаболитов AOS и HPL ветвей в адаптации растений к стрессовым условиям были использованы генетически-модифицированные растения *Arabidopsis thaliana* с измененным профилем оксипиринов. Результаты исследований позволили выявить связь между содержанием эндогенных оксипиринов и устойчивостью растений к названным абиотическим стрессам. С использованием подходов метаболомика был проведен анализ более 60 метаболитов первичного метаболизма, включая метаболиты гликолиза, цикла трикарбоновых кислот, аминокислоты, метаболиты пути реутилизации метионина, а также производные нуклеотидов, которые являются основными участниками энергетического обмена. В работе были выявлены существенные различия в метаболомике растений, как генетически детерминированные, так и связанные с адаптационными изменениями метаболизма в условиях стресса. Анализ фотохимической активности фотосистемы 2 в растениях с измененным содержанием оксипиринов позволил раскрыть связь между активностью пути биосинтеза оксипиринов и функционированием фотосинтетического аппарата в условиях светового стресса. Проведенные исследования позволили выявить ряд новых функций метаболитов AOS и HPL ветвей в регуляции метаболизма и адаптации растений к условиям абиотических стрессов. В настоящее время проводится работа по изменению оксипиринового профиля растений тетраплоидной и гексаплоидной пшеницы путем генетической модификации с целью повышения устойчивости к абиотическим стрессам. Работа поддержана грантом РФФИ №16-14-10155

## Симбиоз растений с эндофитными бактериями

Сарварова Е.Р., Хайруллин Р.М.

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН. Проспект Октября, 71, Уфа, Россия;  
[sarvarova\\_lena@mail.ru](mailto:sarvarova_lena@mail.ru)

Эндофитные бактерии широко распространены в большинстве видов растений, проживают в них латентно или активно колонизируют в тканях, не вызывая заболеваний и не оказывая отрицательного влияния на развитие. Бактериальные эндофиты колонизируют те же экологические ниши в растениях, что и фитопатогенные микроорганизмы, поэтому рассматриваются как перспективный агент биоконтроля фитопатогенов. Эндофитные бактерии способны снижать или предотвращать отрицательное воздействие вредных микроорганизмов на растения. Инокуляция растений эндофитами может значительно уменьшать вред, наносимый растениям патогенными грибами, бактериями, вирусами и насекомыми. Предполагается, что определенные виды эндофитных бактерий запускают защитный механизм растений. Следовательно, бактериальные эндофиты перспективны для разработки микробиологических экологически безопасных приемов борьбы с болезнями растений.

Целью работы являлось получение бактериальных изолятов из внутренних тканей растений после поверхностной стерилизации, изучение их разнообразия и выявление таких хозяйственно-полезных признаков как антагонистическая активность по отношению к фитопатогенным грибам, синтез ауксинов и сидерофоров и способность растворять неорганические фосфаты.

В исследовании преимущественно использовались растения, употребляемые человеком в пищу в свежем виде, это: петрушка кудрявая (*Petroselinum crispum* Mill.), укроп душистый (*Anethum graveolens*), морковь столовая (*Daucus carota*), огурец посевной (*Cucumis sativus*), редис посевной (*Raphanus sativus* convar. *radicula*), салат посевной (*Lactuca sativa* L.), капуста огородная (*Brassica oleracea*), яблоня домашняя (*Malus domestica*), слива домашняя (*Prunus domestica*), а так же мягкая яровая пшеница (*Triticum aestivum* L.) и чистотел большой (*Chelidonium majus*). Корни, побеги, листья, плоды растений поверхностно стерилизовали, измельчали и выкладывали в чашки Петри с питательной средой. После инокуляции в течении 48-72 ч. из одиночных колоний полученных изолятов выделяли ДНК и проводили RAPD-PCR.

Фунгистатическая активность изолятов бактерий в отношении фитопатогенных грибов рода *Fusarium*, рода *Alternaria*, *Bipolaris sorokiniana*, *Phytophthora infestans*, *Rhizopus oryzae* оценивалась методом двойной культуры. Для проверки способности микроорганизмов синтезировать сидерофоры (низкомолекулярные органические вещества, способные образовывать стабильный комплекс с железом), использовали среду с хромазуолом. Фосфат-мобилизирующая активность проверялась на среде Муромцева. Для изучения способности микроорганизмов синтезировать ауксины использовался колориметрический метод с применением реактива Сальковскового. Для отдельных изолятов бактерий была проведена идентификация путем секвенирования фрагментов гена 16S рРНК.

Из различных тканей растений было выделено 297 изолятов, из них отобрано 36, различающихся по RAPD-профиллю (12%). Наибольшая заселенность бактериями наблюдалась в тех растениях и частях растений, которые находятся в почве: корни петрушки и укропа, морковь, редис (62,96%, 91,54%, 84,1%, 81,82% соответственно), наименьшая – в листьях и стеблях. Антагонистическую активность по отношению ко всем грибам проявили два штамма (5,55 %). Более активными штаммы оказались по отношению к грибам *F. avenaceum* и *F. oxysporum* (76,5% и 67,6 % соответственно), менее – к *B. sorokiniana* и *F. sporotrichioides* (50% и 52,9 % соответственно). Способностью синтезировать сидерофоры обладали 4 изолята (1,3%), фосфат-мобилизирующая активность была обнаружена у 44 изолятов (40,7%). Синтез ауксинов в пределах от 3,24 до 32,8 мкг/мл был выявлен в 12 изолятах (33%).

Нами были идентифицированы отдельные изоляты, обладающие хозяйственно-полезными признаками. Среди них 56% принадлежали семейству *Enterobacteriaceae* (род *Enterobacter* и *Pantoea*), – 20% к роду *Pseudomonas*, 24% к роду *Bacillus*.

Таким образом, среди исследованных эндофитов растений нами было выявлено несколько изолятов, обладающих хозяйственно-полезными признаками. Большинство из них относилось к семейству энтеробактерий. В дальнейшем планируется изучение непосредственного влияния данных микроорганизмов на рост и устойчивость растений к болезням.

## Биосинтез рекомбинантных белков в растительных системах экспрессии

Сидорчук Ю.В., Загорская А.А., Дейнеко Е.В.

ФГБУН «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН»,  
пр-т ак.Лаврентьева, 10, Новосибирск, Россия  
[deineko@bionet.nsc.ru](mailto:deineko@bionet.nsc.ru)

Увеличение биосинтеза рекомбинантных белков - одна из актуальных проблем современной биотехнологии. В настоящее время большое число белков медицинского назначения получают не из природных источников, а синтезируют их рекомбинантные аналоги, используя различные системы экспрессии (*E.coli*, дрожжи, клетки животных и др.). Это дает возможность синтезировать в промышленных масштабах такие белки, которые невозможно было бы получить традиционными методами экстракции (например, инсулин или гормон роста человека). Получение рекомбинантных белков основано на технологии рекомбинантных ДНК, включающей клонирование целевого гена, кодирующего фармацевтически ценный белок, и его перенос в геном клеток, в которых данный целевой белок будет синтезирован. На сегодняшний день рынок фармацевтически ценных рекомбинантных белков, на котором представлено более 200 биофармацевтиков, является наиболее быстро развивающимся сегментом экономики.

На данный момент весьма привлекательными для исследователей и фармацевтических компаний становятся растительные системы экспрессии, характеризующиеся более низкой стоимостью их культивирования. Они свободны от нежелательных компонентов, таких как эндотоксины бактерий, или гипергликозилированные целевые белки, продуцируемые дрожжами, а также, в отличие от клеточных культур животного происхождения, свободны от патогенов животных и человека. В клетках растений происходит правильный фолдинг и образование сложных мультимерных белковых комплексов, а также большая часть посттрансляционных модификаций целевых белков, необходимых для их биологической активности. В ближайшем будущем получение рекомбинантных белков в культурах клеток высших растений, вероятнее всего, станет наиболее часто используемой платформой из всех ныне применяемых растительных систем экспрессии.

Несмотря на преимущества растительных систем экспрессии, получение рекомбинантных белков медицинского назначения в клетках растений по-прежнему сталкивается с более низкой продуктивностью по сравнению с культурами клеток млекопитающих. Выход рекомбинантного белка в растительных системах экспрессии составляет в среднем около 1% от общего растворимого белка, но даже при таком невысоком уровне биосинтеза использование растительных систем экспрессии предпочтительно для некоторых биофармацевтических компаний. Исследования, направленные на повышение выхода целевых белков в растительных системах экспрессии, в том числе и в суспензионных культурах клеток высших растений, позволят накопить новые данные по оптимизации их биосинтеза и послужат фундаментальной основой для решения проблемы увеличения биосинтеза рекомбинантных белков в культурах клеток высших растений.

Для получения высокоэффективных клеточных линий в качестве продуцентов рекомбинантных белков представляет интерес использование промоторов, обеспечивающих экспрессию в активно делящихся клетках, например, в меристемах. Созданы генетические конструкции с репортерным геном *uidA*, обеспечивающим экспрессию фермента β-глюкуронидазы, под контролем тканеспецифических промоторов генов *apetala3* и *pr5A* *Arabidopsis thaliana*. Гистохимическое определение активности β-глюкуронидазы в первичных трансформантах (T<sub>0</sub>) и потомках T<sub>1</sub>, полученных от самоопыления, подтвердило экспрессию репортерного *uidA*-гена преимущественно в меристематических зонах растений. Проведен количественный анализ уровня экспрессии исследуемого репортерного гена с применением методов RT-PCR и спектрофотометрии. Установлена значительная вариабельность по экспрессии *uidA*-гена в тканях моноинсерционных гомозиготных растений при использовании обоих типов генетических конструкций, что, очевидно, связано с особенностями интеграции трансгенов в геном табака. Оценен вклад числа функционально активных инсерций на уровень экспрессии исследуемого репортерного гена. На основании полученных данных становится очевидным, что используемые на сегодняшний день технология получения рекомбинантных белков в растительных системах экспрессии (за исключением агроинфильтрации) основаны на случайной интеграции фрагментов чужеродных ДНК в растительный геном, поэтому проблема повышения биосинтеза рекомбинантных белков на данный момент решается за счет поиска «благоприятных» событий интеграции трансгенов в растительный геном.

Для решения проблемы увеличения биосинтеза рекомбинантных белков в культурах клеток высших растений авторами предлагается принципиально новый подход, направленный на поиск в растительном геноме районов с высокой транскрипционной активностью. Наличие таких районов позволит использовать специальные векторы для доставки компонент системы CRISPR/Cas9 в растительные клетки с целью адресной доставки в такие районы целевых генов и обеспечения максимально высокого уровня биосинтеза рекомбинантных белков.

Работа выполнена при финансовой поддержке бюджетного проекта 0324-2016-008 «Генетические основы биотехнологий и биоинформатика».

## Белки, участвующие в системном транспорте РНК по флоэме

Соловьев А.Г., Панкратенко А.В.\* , Толстыко Е.А.\* , Морозов С.Ю.

НИИ им. А.Н.Белозерского МГУ им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия;

\*Биологический факультет МГУ им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия  
[solovyev@genebee.msu.su](mailto:solovyev@genebee.msu.su)

Клетки зрелых проводящих элементов (ПЭ) флоэмы, лишенные ядер, не способны к синтезу белков, однако за последние 15-20 лет накопились данные об идентификации в них целого ряда белков и РНК, в том числе мРНК. Эти данные служили указанием на то, что некоторые мРНК, продуцируемые при транскрипции в клетках-спутниках (КС), имеющих ядра, а также некоторые белки транспортируются через плазмодесмы в клетки ПЭ, и что флоэма участвует в транспорте макромолекул между органами растения.

Первый значительный вклад в понимание механизмов транспорта макромолекул между клетками тканей растения и по сосудистой системе был сделан при изучении РНК-содержащих вирусов растений. Вирусы кодируют специализированные транспортные белки, необходимые для модификации плазмодесм и переноса вирусных геномов в соседние клетки, а также в клетки ПЭ из окружающих клеток, включая КС. Во многих случаях транспорт вирусных РНК происходит в форме невирионных рибонуклеопротеидов, для формирования которых требуется транспортные белки, при этом последние участвуют также и в увеличении пропускающей способности плазмодесм.

С момента обнаружения во флоэмном соке РНК основные исследования фокусируются на биологических функциях мобильных флоэмных мРНК. Было показано, что мобильные мРНК важны для онтогенеза, а именно могут определять форму листьев, размер и форму плодов, влиять на клубнеобразование и архитектуру корневой системы. Эти фенотипические эффекты вызываются действием белков, кодируемых мобильными мРНК флоэмы, среди которых обнаружен целый ряд транскрипционных факторов. Истинное разнообразие репертуара флоэмных мРНК было выявлено в недавно проведенных исследованиях по гетерологичным прививкам, в которых наблюдали транспорт мРНК из растений *Arabidopsis thaliana*, служивших подвоем, в растения *Nicotiana benthamiana*, использовавшиеся как привой.

Во флоэме обнаруживаются также микро-РНК и малые интерферирующие РНК (siRNA), участвующие в РНК-сайленсинге. Показано, что сигнал сайленсинга легко проходит через сочленения сосудов при гетерологичных прививках.

Зрелые клетки ПЭ флоэмы не содержат рибосом, однако во флоэмном соке обнаруживаются рибосомальные РНК и различные, хотя далеко не все, тРНК. Так, в больших количествах обнаружены аспарагиновая, лизиновая, глициновая и метиониновая тРНК, тогда как треониновая и изолейциновая тРНК во флоэмном соке не были найдены. Функции тРНК в клетках ПЭ оставались неясными, пока не было обнаружено, что мобильная форма мРНК холин-киназы 1 существует как составной транскрипт, кодирующий сам фермент и полноразмерную глициновую тРНК. Транскрипт, не содержащий области тРНК, не способен транспортироваться по флоэме. Более того, мобильные РНК транскрипты обогащены последовательностями тРНК, а искусственные мРНК с геном GUS могут транспортироваться по флоэме в случае включения в их последовательность метиониновой или глициновой тРНК. Эти данные прямо указывают на роль тРНК как сигналов дальнего транспорта по флоэме.

В настоящий момент проводятся активные исследования белков растений, обеспечивающих транспорт эндогенных РНК по флоэме подобно тому, как вирусные транспортные белки делают возможным транспорт вирусных РНК. К сегодняшнему дню показано, что среди белков, выявленных во флоэмном соке, имеется значительное количество РНК-связывающих белков, которые могут взаимодействовать с мобильными РНК и обеспечивать их защиту и специфический транспорт. Для некоторых из этих белков прямо показана их роль в транспорте РНК. Среди них можно назвать белок PSRP1 (PHLOEM SMALL RNA BINDING PROTEIN 1), предпочтительно связывающий siRNA в одноцепочечной форме, и комплекс белков CmPP16/ТСРР/eIF5A/CmRBP50, участвующий в транспорте мРНК по флоэме растений тыквы.

Будут представлены как современные данные исследований белков, участвующих в транспорте РНК по флоэме, так работы по идентификации новых белков, способных связывать мобильные РНК.



**Совместное действие ультрафиолета с и р-кумаровой кислоты на накопление стильбенов и экспрессию генов, участвующих в биосинтезе стильбенов в лианах дикорастущего винограда *Vitis Amurensis* Rupr.**

**Супрун А.Р.\*\*\*, Огнева З.В.\*\*\*, Дубровина А.С.\*, Киселев К.В.\*\*\***

\*Лаборатория биотехнологии ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН, Владивосток, 690022, Россия;

\*\*Кафедра биохимии, микробиологии и биотехнологии, ДВФУ, 690090, Владивосток, Россия;  
[89146508570@yandex.ru](mailto:89146508570@yandex.ru)

Стильбены растений – это фенольные соединения, которые являются вторичными метаболитами с сильными биологически активными свойствами. К стильбенам относят группу веществ, но *транс*-резвератрол является ключевым, так как он чаще всего встречается в природе и его дальнейшие модификации приводят к получению ряда других стильбенов. В природе стильбены встречаются у нескольких неродственных семейств растений, таких как *Vitaceae*, *Fabaceae*, *Polygonaceae*, *Pinaceae* и др. Стильбены являются ценными фенольными соединениями растений и играют важную роль в устойчивости к некоторым биотическим и абиотическим стрессам, в том числе к ультрафиолетовому излучению.

Ранее было показано, что добавление в питательную среду предшественников фенольных соединений к клеточной культуре винограда положительно влияет на биосинтез стильбенов, но подобные исследования не проводились с растениями винограда. В данной работе впервые исследовано влияние добавления кумаровой кислоты на биосинтез стильбенов в листьях лианы винограда амурского *Vitis amurensis* Rupr., которая была разделена на несколько черенков с одним листом. Черенки на время эксперимента были помещены в стаканы с питательной безгормональной средой Wo. В образцы были взяты со стандартными условиями и после обработки ультрафиолетом. С помощью метода ВЭЖХ мы показали наличие 6 стильбенов (*cis*-piceid, *t*-piceid, *t-ε*-viniferin, *cis-ε*-viniferin, *t*-resveratrol и *t-δ*-viniferin) после добавления р-кумаровой кислоты, общее содержание составило 0,5 мг на грамм сухой массы, это в 2,4 раза выше в сравнении с содержанием в листьях в стандартных условиях (0,2 мг/г сухой массы). Помимо этого, одновременное добавление р-кумаровой кислоты и обработка ультрафиолетом приводит к объединению эффектов: увеличению общего объема продукции стильбенов до 0,7 мг/г сухой массы, это в 3,5 раза больше в сравнении с содержанием в листьях, растущих при стандартных условиях. Более того, образцы с добавлением р-кумаровой кислоты были более устойчивы к воздействию ультрафиолета. Увеличение содержания стильбенов после внесения кумаровой кислоты и ультрафиолетового излучения коррелирует с ростом экспрессии генов резвератрол о-гликозилтрансферазы (Glu1), полифенольной оксидазы (PPO1), катионной пероксидазы 1 (Per1) и некоторых стильбен синтаз (STS). Таким образом, добавление предшественников фенольных соединений является эффективной стратегией для активации процессов вторичного метаболизма в растениях.

## Устойчивость и риски культивирования высших растений в условиях замкнутых экосистем

Тихомиров А.А., Ушакова С.А., Тихомирова Н.А., Величко В.В.

Институт биофизики СО РАН, Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр СО РАН».  
Академгородок, д. 50, стр. 50, Красноярск, Россия  
[alex-tikhomirov@yandex.ru](mailto:alex-tikhomirov@yandex.ru)

На основании выполненных экспериментальных шестимесячных исследований в физической модели замкнутой экосистемы (ЗЭС) космического назначения с расчетной долей человека рассматриваются особенности и риски формирования продукционного процесса фотосинтезирующего звена высших растений с учетом особенностей воздействия светового фактора, минерального питания, возможных поллютантов в ЗЭС и питательном растворе, а также аллелопатических взаимодействий.

**Световой фактор.** Рассмотрены физиологические особенности культивирования растений при облученностях, приближающихся к максимальному КПД фотосинтеза ценозов и соответствующих 300-800 мкмол/м<sup>2</sup>сек в зависимости от вида культуры. Это позволяет при тех же посевных площадях увеличить число членов экипажа в ЗЭС, либо создавать более компактные ЗЭС без изменения численности членов экипажа. Проанализирована спектральная эффективность облучения при формировании продуктивности высших растений при использовании светодиодных облучателей повышенной мощности с разным спектром. Показано, что наиболее оптимальным решением для выращивания в ЗЭС разновозрастных и разновидовых ценозов будет использование источников белого света, который обеспечивает гарантированно высокий урожай. Использование белого света создает также благоприятную световую среду не только для растений, но и для глаза человека. Экспериментально обосновывается вывод, что использование излучения для интенсификации продуктивности фототрофного звена с высшими растениями в ЗЭС связано в первую очередь с использованием белого света.

**Минеральное питание.** Исследовали возможности полной минерализации несъедобной биомассы ряда овощных растений (например, *Beta vulgaris* L. сорт «Бордо») в почвоподобном субстрате (ППС). Показано, что повышение продуктивности растений на ППС при внесении в него растительных отходов разных видов возможно в случае, если вносимая биомасса имеет более высокую скорость разложения в ППС, чем скорость прироста биомассы культивируемого вида. Лигнинсодержащая солома пшеницы трудно минерализовалась в ППС, поэтому она подвергалась предварительному физико-химическому окислению различной глубины переработки. Показано, что урожай пшеницы, как по зерну, так и по несъедобной биомассе, резко понижался с уменьшением степени окисленности соломы. Поэтому для быстрого и эффективного вовлечения соломы в круговоротный процесс ЗЭС требуется достаточно высокая степень ее физико-химической минерализации. Для оценки степени сбалансированности минерального питания высших растений были проанализированы минеральный состав ирригационных растворов, используемых для полива растений. Расчеты показали, что первичными лимитирующими элементами являются калий и азот. Установлено, что при длительных экспериментах коррекция только по азоту может привести к калийному истощению ППС. Поэтому для поддержания долговременных круговоротных процессов в созданных ЗЭС необходимо регулировать внесение несъедобной биомассы растений в субстрат в соответствии с выносом калия со съедобной биомассой растений, выращенных на этом субстрате. Зафиксированный дисбаланс натрия (ввиду вовлечения в круговорот жидких выделений человека) связан с увеличением поступления их содержания через вносимую несъедобную растительную биомассу в ППС. В докладе анализируются возможности устранения такого дисбаланса.

**Поддержание газообмена человек-высшие растения.** В процессе функционирования фототрофного звена ЗЭС концентрация кислорода возрастала. Для ее поддержания в приемлемых для человека концентрациях (20-23%) к газовому контуру ЗЭС периодически подключалась дыхательная функция человека. За счет дыхания человека удалось поддерживать концентрацию CO<sub>2</sub> на уровне, не лимитирующим фотосинтетические процессы и не являющейся вредной для человека (800 – 2500 ppm). При этом усвоенный растениями CO<sub>2</sub> составлял от 1 % до 4 % от суточной нормы человека. Соответствующая суточная продуктивность растений составляла около 7% от суточной нормы человека в растительной пище.

**Поллютанты в ЗЭС.** К окончанию эксперимента в атмосфере ЗЭС были обнаружены следовые количества поллютантов органической природы. Наблюдали симптоматику постепенного ухудшения качества несменяемого питательного раствора, связанную с увеличением содержания недоокисленных органических веществ, корневых выделений растений и продуктов жизнедеятельности микроорганизмов. Нарастание содержания поллютантов в ЗЭС повлияло на продуктивность растений, которая к концу функционирования ЗЭС снизилась в среднем на 25-30%.

В заключение рассматриваются пути устранения рассмотренных лимитирующих факторов в работе фотосинтезирующего звена высших растений для устойчивого функционирования ЗЭС на долговременный период.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №14-14-00599) в ИБФ СО РАН.

**“Зеленый синтез” селеновых наночастиц ризобактериями *Azospirillum brasilense*: механизмы бактериального восстановления селенит-ионов****Тугарова А.В., Мамченкова П.В., Камнев А.А.**

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, пр. Энтузиастов, 13, Саратов, Россия

Биогенное образование наноразмерных частиц, состоящих из различных элементов (в частности, селена), микроорганизмами широко распространено в природе. Это явление все больше привлекает внимание исследователей в последнее десятилетие не только из-за широкого спектра применения таких наночастиц (НЧ), но и из-за специфики механизмов образования НЧ, связанных с «зеленым синтезом» (green chemistry). Бактериальный синтез наночастиц относится к данной области, основной целью которой является минимизация вреда окружающей среде при синтезе химических веществ. Таким образом, биотехнологические методы получения НЧ различных элементов с участием биологических объектов (микроорганизмов, растений, животных и/или ферментов, полученных из них) являются экологически безопасной альтернативой их химического синтеза и в настоящее время активно развиваются.

В докладе обобщены результаты последних лет работы нашей группы по синтезу Se НЧ наиболее изучаемыми ризобактериями рода *Azospirillum*: *A. brasilense* (штаммы Sp7 и Sp245), средой обитания которых является ризосфера растений. С использованием методов просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) и спектроскопии энергетических потерь электронов было установлено, что ризобактерии *A. brasilense* Sp245 и Sp7 способны восстанавливать селенит ( $\text{SeO}_3^{2-}$ ) с образованием гетерогенных НЧ элементарного селена преимущественно внутри клеток [1, 2]. В процессе исследований были подобраны условия восстановления  $\text{SeO}_3^{2-}$  и разработана схема, позволяющая получить однородные внеклеточные Se НЧ. Она включала следующие основные этапы: (i) выращивание бактериальных культур до поздней логарифмической фазы роста (18 ч); (ii) добавление к отмытым клеткам  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  до конечных концентраций 10–50 мМ и (iii) инкубация в течение 24 ч. Было показано, что размер синтезированных Se НЧ зависел от начальной концентрации  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ . С увеличением используемой концентрации  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  происходило уменьшение размера синтезируемых Se НЧ: ~90 нм – для 10 мМ; ~70 нм – для 25 мМ; ~45–50 нм – для 50 мМ. Наиболее однородными по размеру были Se НЧ, полученные при инкубации с 10 мМ  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ , средний размер которых составлял ~90 нм. Синтезированные Se НЧ были охарактеризованы с использованием методов динамического рассеяния света, ПЭМ и спектрофотометрии. Величины дзета-потенциала составили (в мВ): –23,7 для Se НЧ, синтезированных при 50 мМ селенита; –22,1 при 25 мМ и –21,5 при 10 мМ.

Было исследовано восстановление селенит-ионов штаммом *A. brasilense* Sp7 при обработке клеток ингибитором протонной помпы: карбонилцианид-*л*-хлорфенилгидразоном (CCCP), в концентрациях 5–50 мкМ. Ранее было показано, что эти концентрации полностью ингибируют рост *A. brasilense* Sp245 [3]. Восстановление селенита без обработки CCCP *A. brasilense* Sp7 происходило с образованием внеклеточных сферических Se НЧ. После обработки CCCP восстановление  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  бактериальными клетками *A. brasilense* Sp7 носило принципиально другой характер. На фотографиях ПЭМ наблюдались длинные кристаллы в виде внутриклеточных включений. Предлагаемый нами механизм синтеза Se НЧ у *Azospirillum* (возможно, и у других бактерий) может включать четыре этапа: (i) перенос селенит-ионов внутрь клетки; (ii) внутриклеточное восстановление с образованием зародышей  $\text{Se}^0$ ; (iii) вынос зародышей селена  $\text{Se}^0$  из клетки; (iv) внеклеточная сборка Se НЧ. Согласно нашим данным, добавление CCCP к живым клеткам, блокирует третий этап. В этом случае зародыши  $\text{Se}^0$  остаются внутри клеток, где в процессе роста образуют кристаллы. Таким образом, было продемонстрировано участие протонзависимого транспорта в одном из этапов – экстраклеточном транспорте зародышей  $\text{Se}^0$  в процессах восстановления  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  и синтеза Se НЧ.

Восстановление селенита (этап ii) может происходить с участием многих белков – как различных ферментов, так и других макромолекул. Точные механизмы этих преобразований еще детально не изучены. Предполагается, что они включают реакции с тиоловыми группами глутатиона и протеинов (реакции типа Painter), реакции с участием сидерофоров, активность диссимиляционных редуктаз и т.д.

Методом ИК-фурье-спектроскопии было показано [4], что полученные Se НЧ содержат в своем составе различные биологические макромолекулы, включая белки и полисахариды, а также значительное количество карбоксильных групп, что, очевидно, обеспечивает их достаточно высокий отрицательный дзета-потенциал.

Наноструктуры элементарного селена перспективны для различных биотехнологических и медицинских применений. Детальное знание процессов, связанных с бактериальным восстановлением селенита, также может быть использовано при фиторемедиации с участием ризосферных и почвенных бактерий для очистки загрязненных селеном почв или водоносных горизонтов.

Работа выполнена при частичной поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант 16-08-01302-а).

1. Тугарова А.В. и др. (2013) *Микробиология* 82 (3): 362-365.
2. Tugarova A.V. et al. (2014) *Microb. Ecol.* 68 (3): 495-503.
3. Shelud'ko A.V. et al. (2012) *Folia Microbiol.* 57(1): 5-10.
4. Kamnev A.A. et al. (2017) *J. Mol. Struct.* <http://dx.doi.org/10.1016/j.molstruc.2016.12.003>.

## Латеральная подвижность белковых комплексов и липидов в мембранах хлоропластов: влияние на фотосинтез

*Тютерева Е.В., Евкайкина А.И., Иванова А.Н., Войцеховская О.В.*

ФГБУН Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН. ул. Профессора Попова, 2, Санкт-Петербург, Россия  
[ETutereva@binran.ru](mailto:ETutereva@binran.ru)

На начальной стадии фотосинтеза кванты света поглощаются двумя фотосистемами, которые функционируют последовательно, организуя перенос электронов по цепи переносчиков. Одним из лимитирующих этапов переноса энергии по фотосинтетической электрон-транспортной цепи, как известно, является диффузия молекул пластохинона между реакционными центрами ФСII и цитохром-*b6/f* комплексами. Эффективность этой диффузии определяется текучестью липидной фазы, несущей молекулы пластохинона, а также размером и количеством препятствий, встречающихся на пути молекул пластохинона. Такими препятствиями в тилакоидной фотосинтетической мембране выступают агрегаты пигмент-белковых комплексов – фотосистем и тримеров светособирающих комплексов. Как показали недавние исследования, размер этих агрегатов, плотность их упаковки и скорость диффузии липидной фазы исключительно важны для эффективного фотосинтеза. Таким образом, изучение этих характеристик тилакоидной мембраны является актуальной задачей физиологии растений. В данной работе исследовали латеральную подвижность хлорофилл-связывающих белковых комплексов и липидов в тилакоидных мембранах мутантов ячменя и арабидопсиса, являющихся нокаутами по гену фермента хлорофиллид-*a*-оксигеназы (*CAO*). Одновременно оценивали размер пластохинонового пула и динамику его редокс-состояния на свету. Предполагалось выявить взаимосвязь между характерными для этих мутантов изменениями состава суперкомплексов на основе фотосистем и пониженным уровнем фотосинтеза, и динамикой компонентов тилакоидных мембран. В работе использовали методы лазерной сканирующей конфокальной микроскопии (регистрировалось восстановление флуоресценции меток после фотовыцветания, Fluorescence Recovery After Photobleaching), ПАМ-флуориметрии (проводился анализ быстрой миллисекундной кинетики флуоресценции ОЛР в присутствии ингибитора восстановления пластохинона DCMU, а также динамики изменений флуоресценции ФСII на фоне длительного воздействия актиничным светом), вестерн-блоттинга и флуоресцентных зондов-ловушек активных форм кислорода. В результате было показано, что латеральная подвижность пигмент-белковых комплексов и липидов изменена в *CAO*-мутантах ячменя и арабидопсиса в разной степени и разнонаправленно по сравнению с дикими типами. В мембранах мутанта арабидопсиса диффузия липидов была снижена по сравнению с диким типом, тогда как подвижность белков оказалась неизменной. У мутанта ячменя диффузия пигмент-белковых комплексов оказалась замедлена, тогда как подвижность липидов была выше, чем в диком типе. В мембранной фракции хлоропластов обоих мутантов были идентифицированы все типы *Lhcb* и *Lhca* апопротеинов, но их количество по сравнению с дикими типами было снижено в одинаковой степени. Снижение содержания антенных белков коррелировало с уменьшением функционального размера антенн у обоих мутантов. В то же время, только для мутантов ячменя были показаны значительные нарушения переноса электронов в электрон-транспортной цепи: под действием света высокой интенсивности развивалась значительная перевосстановленность пластохинонового пула. Дополнительные исследования показали, что перевосстановление пластохинона не было связано с дефицитом молекул пластохинона (размер пула не различался у мутанта и дикого типа), но коррелировало со значительным изменением стехиометрии РЦ ФСII/цитохром *b6/f* комплексов в сторону преобладания реакционных центров фотосистем, выступающих донорами электронов, поступающих на пластохиноновый пул, над количеством акцепторов электронов - цитохром *b6/f* комплексов. Перевосстановленность пула пластохинонов в листьях мутанта ячменя на сильном свету сопровождалась накоплением активных форм кислорода. На основе полученных данных мы предполагаем, что основной причиной низкой интенсивности фотосинтеза у мутанта ячменя выступает лимитация окисления пластохинонового пула, приводящая к развитию фотоокислительного стресса и повреждению ФСII. Снижение подвижности белков в тилакоидных мембранах мутанта ячменя затрудняет процесс репарации реакционных центров, что приводит к развитию фотоингибирования. Подавление фотосинтетической функции в хлоропластах мутантов арабидопсиса, вызвано, по-видимому, другими причинами, не связанными с существенной лимитацией электронного транспорта. Исследование поддержано РФФИ (грант №14-16-00120-П). Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Клеточные и молекулярные технологии изучения растений и грибов» Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН (Санкт-Петербург) и Ресурсного центра «Развитие молекулярных и клеточных технологий» СПбГУ.

## Каллусная культура *Conium maculatum* L. - перспективный источник фуранокумаринов

Филонова М.В. \*, Медведева Ю.В., Шилова И.В., Чуринов А.А. \*

НИ Томский государственный университет, пр. Ленина 36, Томск, 634050, Россия  
\*НИИ фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга, Томский НИМЦ РАН, пр. Ленина, 3,  
Томск, 634028, Россия  
[Maria-Caurus7@yandex.ru](mailto:Maria-Caurus7@yandex.ru)

*Conium maculatum* L. (болиголов пятнистый) — растение семейства *Apiaceae* (Зонтичные), токсичные свойства которого обусловлены наличием алкалоидов. Также болиголов содержит фуранокумарины, флавоноиды, эфирные масла, сапонины, полиацетилены и другие биологически активные вещества. Болиголов широко используется в традиционной медицине многих стран, включен в большинство растительных сборов для лечения широкого спектра заболеваний, в том числе и онкологических.

Большой интерес представляют фуранокумарины - природные соединения, оказывающие фотосенсибилизирующее, сосудорасширяющее, противосудорожное, бактериостатическое и антигрибковое действие. Так же они обладают противосвертывающей, противоопухолевой активностью и др. По данным литературы содержание фуранокумаринов в надземной части интактного растения составляет 0,13-0,17%.

На кафедре физиологии растений и биотехнологии НИ ТГУ получена каллусная культура болиголова пятнистого, была проведена оценка ее продуктивности, жизнеспособности и ростовых параметров.

Целью работы явилось исследование фуранокумаринов каллусной культуры болиголова пятнистого с помощью метода газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ/МС).

Для исследования использовали замороженную 30 суточную каллусную культуру болиголова пятнистого. Сырье экстрагировали подкисленной водой с последующей рекстракцией биологически активных веществ хлороформом из кислой и щелочной среды. Полученное кислое хлороформное извлечение выпаривали до сухого остатка, который далее растворяли в 1,5 мл хлороформа.

Исследование экстракта полученного из каллусной культуры болиголова проводили на приборе Trace DSQ (Thermoelectron corp., США), с программным обеспечением Xcalibur 1.4. В работе использовали колонку TR-5MS (30м\*0,25мм\*0,25мкм) с 5%-ным (эквивалентным) полисилилфенилен-силоксаном в качестве неподвижной фазы, в качестве инертного газа-носителя использовали гелий. Пики хроматограмм GC-MS были автоматически интегрированы с использованием программного обеспечения Xcalibur 1.4 (Thermo Electron Corporation, США). Пики идентифицировали с помощью программы масс-спектрального поиска NIST (Стандартная программа справочных данных Национального института стандартов и технологий, США).

В результате ГХ/МС анализа в кислом извлечении из каллусной культуры болиголова обнаружены фуранокумарины, а именно – ксантотоксин (0.29%), изопимпинеллин (0.85%).

Ксантотоксин и изопимпинеллин являются конечными продуктами биосинтеза фуранокумаринов в растениях, поэтому в дальнейшем планируется рассмотрение более ранних стадий культивирования клеточной культуры болиголова пятнистого, что возможно приведет к обнаружению предшественников указанных фуранокумаринов, таких как бергаптен, псорален и др.

**Новый методологический подход к сравнительной оценке генотипов томата (*Solanum lycopersicum* L.) по солеустойчивости в условиях *in vitro***

**Халилуев М.Р.\*\*\*, Богоутдинова Л.Р.\*\*\*, Долгов С.В.\*, Аканов Э.Н.\*\*\*, Баранова Е.Н.\***

\* Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Тимирязевская ул., 42, Москва, Россия;

\*\* Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева, Тимирязевская ул., 49, Москва, Россия;

\*\*\* Всероссийский научно-исследовательский институт агрохимии им. Д.Н. Прянишникова, Прянишникова ул., 31а  
[marat131084@rambler.ru](mailto:marat131084@rambler.ru)

Важной составляющей для понимания механизмов устойчивости растений к засолению является оценка растительных организмов по комплексу физиолого-биохимических, цитогенетических и молекулярно-биологических показателей. Необходимое требование для получения достоверных и корректных для интерпретации экспериментальных данных – создание и поддержание контролируемых константных условий при тестировании растительных объектов в условиях засоления. Это обусловлено тем, что изменяющиеся факторы окружающей среды (температура, относительная влажность воздуха, интенсивность освещения, степень загрязнённости воздуха и др.) кардинальным образом влияют на реакцию растений при действии засоления. Отмеченных недостатков лишена система тестирования растений в экспериментальных условиях *in vitro*. В большинстве исследований по моделированию засоления *in vitro* для оценки авторы используют семена, которые проращивают на питательных средах в присутствии стрессового фактора. Существенным недостатком данного объекта для культивирования является то, что даже качественный семенной материал сильно различается по всхожести, энергии прорастания, выровненности. В связи с этим, нами предлагается новый методологический подход – использование фрагментов однородных по габитусу и стадии развития асептических ювенильных проростков, полученных из семян. Растительным материалом для исследований служили асептические проростки двух генотипов томата (*Solanum lycopersicum* L.): селекционная линия ЯЛФ и сорт Рекордмен. Для этого у 8-10-суточных проростков томата на стадии начала образования первого настоящего листа отсекали корень и часть гипокотыля, чтобы их размер составлял около 2 см, после чего их переносили в культуральные сосуды с питательной средой ½MS, содержащей 0,2 мг/л ИМК для индукции ризогенеза и различные концентрации NaCl (0–250 мМ). На 8 сутки культивирования определяли частоту ризогенеза (%), проводили морфометрическую характеристику корней и побеговой части проростков томата по следующим показателям: количество (шт.) и длина (см) регенерированных корней, сырая и сухая биомасса корней и побеговой части проростка (мг). Установлены показатели интенсивности темного дыхания и истинного фотосинтеза проростков томата с помощью ранее разработанной системы контроля фотосинтетического и дыхательного CO<sub>2</sub>-газообмена растений, изолированных органов и тканей *in vitro*. Регенерированные в различных условиях NaCl засоления корни, а также фрагменты срединной части гипокотыля, семядолей и настоящего листа фиксировали для проведения световой и трансмиссионной электронной микроскопии. Кроме того, был проведен иммуноцитохимический анализ α-тубулинового цитоскелета клеток меристематической зоны корня у проростков двух различающихся генотипов томата в условиях NaCl засоления *in vitro*. В результате исследований было установлено, что на ранних этапах развития (стадия проростков) изученные генотипы томата существенным образом отличаются по устойчивости к NaCl засолению по показателям сырой и сухой биомассы регенерированных корней, побеговой части проростков, интенсивности темного дыхания и истинного фотосинтеза. Экспериментально установлены сублетальные концентрации NaCl, которые для линии ЯЛФ и сорта Рекордмен составили 150 и 250 мМ соответственно. Продемонстрировано, что изменение размеров и формы клеток различных тканей гипокотыля и семядолей могут использоваться в качестве цитологических показателей для сравнительной оценки генотипов томата по устойчивости и/или чувствительности к засолению. Методом трансмиссионной электронной микроскопии выявлены существенные различия между генотипами томата по структурной организации хлоропластного и ядерного компартментов в клетках губчатого мезофилла семядольных листьев в условиях 150 мМ NaCl. Применение антител к α-тубулину позволило изучить организацию сети микротрубочек в интерфазных клетках корня проростков томата линии ЯЛФ и сорта Рекордмен в условиях NaCl засоления *in vitro*, а также выявить характерные для каждого генотипа морфологические изменения тубулинового цитоскелета при различных концентрациях стрессового фактора. Предложенный методологический подход может быть успешно применен не только для сравнительной оценки различных генотипов томата в условиях NaCl засоления, но и в случае других абиотических стрессовых факторов (например, засухи, тяжелых металлов и других), а также растительных объектов, обладающих высокой способностью к органогенезу корней в условиях *in vitro*.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 16-34-01331 мол\_а.

## Реорганизация органелл в ходе дифференцировки растительной клетки азотфиксирующего клубенька

Цыганов В.Е., Китаева А.Б., Горшков А.П., Цыганова А.В.

ФГБУН «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», ш.  
Подбельского д. 3, Пушкин 8, 196608, Санкт-Петербург, Россия  
[tsyganov@arriam.spb.ru](mailto:tsyganov@arriam.spb.ru)

Симбиотический клубенек служит уникальной экологической нишей для почвенных бактерий – ризобий, в которой поддерживаются микроаэробные условия для функционирования основного фермента азотфиксации – нитрогеназы, крайне чувствительной к кислороду. Для размещения бактерий в симбиотическом клубеньке формируются специализированные инфицированные клетки, которые в результате эндоредупликации увеличиваются в размерах и становятся способными дать приют тысячам бактерий. При этом необходимо отметить, что бактерии остаются изолированными от цитоплазмы растительной клетки мембраной растительного происхождения с включениями бактериальных белков – симбиосомной мембраной. Ризобии дифференцируются в специализированную для азотфиксации форму – бактериоиды, которые вместе с окружающей их симбиосомной мембраной, формируют симбиосомы. Инфицированная клетка симбиотического клубенька представляет собой уникальную для бобовых растений систему, появившуюся в ходе эволюции для обеспечения адаптации растений к нехватке азота в почве и обеспечивающую их симбиотрофное питание. В последние годы активно развивается точка зрения, что симбиосомы следует рассматривать как специализированные факультативные для растительной клетки симбиотические органеллы. Следует отметить, что количество симбиосом в каждой клетке весьма велико и может достигать нескольких тысяч. Очевидно, что для размещения такого значительного числа новых органелл в клетке должны происходить значительные перестройки, связанные с реорганизацией собственных органелл. На начальных этапах развития клубенька показана миграция ядра, связанная с микротрубочками, в клетке корневого волоска при формировании инфекционной нити. Однако на более поздних этапах развития симбиоза локализация ядра при формировании инфицированных и неинфицированных клеток не изучалась.

С использованием методов иммунолокализации и конфокальной лазерной сканирующей микроскопии был проведен детальный анализ процесса миграции клеточного ядра в ходе дифференцировки растительной клетки, проанализированы изменения в организации актинового и тубулинового цитоскелета, сопровождающие процесс миграции у двух видов Бобовых: важного для сельского хозяйства гороха посевного (*Pisum sativum* L.) и модельного растения люцерны слабоусеченной (*Medicago truncatula* Gaertn.). Было показано, что в клубеньках дикого типа в меристематических клетках ядро занимает центральное положение, при этом оно окружено плотной сетью эндоплазматических микротрубочек, связывающих его с периферией клетки. В то же время актин представлен короткими микрофиламентами. В клетки, покидающие меристему, проникают инфекционные нити, и ядро оказывается ассоциировано с ними, будучи при этом окруженным сетью микротрубочек и актиновых микрофиламентов. В молодых инфицированных клетках ядро смещалось к периферии клетки. По мере дифференцировки инфицированной клетки, сопровождающейся увеличением ее объема и числа симбиосом, наблюдалось увеличение размера ядра и его движение к центру клетки, которое завершалось примыканием ядра к центральной вакуоли. Весь этот процесс сопровождался присутствием хорошо развитой сети актиновых микрофиламентов, ассоциированной с ядром. В то же время эндоплазматические микротрубочки были ассоциированы с инфекционными нитями, инфекционными каплями и симбиосомами. При этом не было выявлено различия между двумя проанализированными видами бобовых растений: горохом и *M. truncatula*. Исследования мутантов гороха и *M. truncatula*, с нарушениями в развитии инфекционных нитей (в ортологических генах *Pssym40/Mtefd* и *Pssym33/Mtipd*) позволили подтвердить тесную ассоциацию ядра и инфекционной нити. Использование мутантов с различной степенью дифференцировки бактериоидов (в неортологических генах *Pssym26*, *Pssym31* и *Mtdnf-1*) показало, что процесс движения и позиционирования ядра не связан с процессом дифференцировки бактериоидов.

Работа поддержана РНФ 16-16-10035

**Изучение микробно-растительного интерфейса в ходе развития симбиотического клубенька***Цыганова А.В., Селиверстова Е.В., Цыганов В.Е.*

ФГБУН «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», 196608, ш. Подбельского, 3, г. Пушкин 8, г. Санкт-Петербург, Россия  
[isaakij@mail.ru](mailto:isaakij@mail.ru)

В ходе развития бобово-ризобияльного симбиоза ризобии должны проникнуть в клетки растения-хозяина. Так как растительные клетки окружены прочными клеточными стенками, проникновение ризобий в клетки корневых волосков, коры корня, а в последующем в клетки клубенькового примордия требует развития специализированных механизмов для преодоления этого барьера. При взаимодействии микро- и макросимбионтов формируется растительно-микробный интерфейс, включающий в себя клеточные стенки, межклеточный матрикс и плазматическую мембрану со стороны растения и бактериальные поверхностные полисахариды и белки.

В проведенном нами исследовании изучалось изменение эпитопного состава матрикса клеточной стенки (пектинов различного строения) в симбиотических клубеньках гороха и люцерны исходных и мутантных линий. Матрикс клеточной стенки включает не менее 8 полисахаридов, наиболее распространенными из них являются гомогалактуронан, или полигалактуроновая кислота, и рамногалактуронан I. Общей модификацией гомогалактуронана является метилэтерификация карбоксильных групп. В нашем исследовании были использованы антитела к высоко- и низко-метилованному гомогалактуронану – JIM7 и JIM5, соответственно. От степени метилирования зависит возможность образования ковалентных связей с  $Ca^{2+}$  с усилением ригидности клеточной стенки. При исследовании клубеньков гороха дикого типа и мутантных генотипов, блокированных на различных стадиях клеточной дифференцировки и роста инфекционной нити, были выявлены различия в локализации пектиновых веществ матрикса клеточных стенок растительной клетки и стенок инфекционных нитей. Так, в клубеньках дикого типа преобладал высоко-метилованный гомогалактуронан, меченный антителом JIM7, который наблюдался во всей толще клеточных стенок как инфицированных, так и неинфицированных клеток. Накопление JIM5 отмечалось в зоне старения и возрастало с увеличением возраста клубеньков. У мутантных генотипов SGEFix<sup>-1</sup> (*sym40*) и SGEFix<sup>-2</sup> (*sym33*) в клеточных стенках инфицированных клеток и инфекционных нитей наблюдались обе формы пектина. У мутанта SGEFix<sup>-1</sup> (*sym40*), кроме того, можно было отметить отложение пектина в матриксе гипертрофированных инфекционных капель.

Второй тип пектиновых полисахаридов – рамногалактуронан I. Он содержит много боковых цепей и относится к «волосистой» (разветвленной) области пектина. Нами было исследовано распределение рамногалактуронана I с высокой степенью ветвления и наличием  $\beta$ -(1→4)-галактозы в боковых цепях, распознаваемым антителом LM5. Одним из необычных свойств данного пектина является способность формировать водорастворимые ассоциаты. В нашем исследовании в симбиотических клубеньках гороха исходной линии данный пектин наблюдался в основном в клеточных стенках меристемы, флоэмных проводящих пучках и инфекционных нитях. Одной из функций клеточных стенок является транспортная, и обводненный матрикс способствует лучшей диффузии различных низкомолекулярных веществ. В связи с этим можно предположить, что стенки инфекционных нитей содержат большее количество рамногалактуронана I для поддержания необходимого тургора и обмена различными веществами между растением и бактериями. У мутантных генотипов SGEFix<sup>-1</sup> (*sym40*) и SGEFix<sup>-2</sup> (*sym33*) рамногалактуронан I отсутствует в стенках некоторых инфекционных нитей, что подтверждает аномальный характер их функционирования.

При проведении иммуноцитохимического анализа эпитопного состава плазматической и симбиосомной мембраны в клетках клубеньков исходных линий гороха наблюдалось накопление метки JIM1 (галактозные остатки арабиногалактановых белков (АГБ)) на внешней поверхности плазматической мембраны и симбиосомной мембраны, а также в симбиосомном пространстве вокруг бактериоидов. При этом максимум сигнала был отмечен на 4-ой неделе после инокуляции ризобиями, что может говорить о том, что этот белок встраивается в мембрану зрелых симбиосом и может служить маркером дифференцировки бактериоидов. Это было подтверждено анализом клубеньков мутантных линий, характеризующихся различной степенью дифференцировки бактериоидов. У мутанта SGEFix<sup>-1</sup> (*sym40*) накопление АГБ в симбиосомных мембранах практически отсутствовало. У мутанта SGEFix<sup>-3</sup> (*sym26*), характеризующегося большей степенью дифференцировки бактериоидов, чем у линии SGEFix<sup>-1</sup> (*sym40*), но меньшей, чем у дикого типа, АГБ присутствовал в симбиосомных мембранах, но в крайне незначительном количестве.

Работа поддержана грантом РФ (16-16-10035).



**Особенности вторичного каротиногенеза у зеленых микроводорослей порядка Volvocales***Челебиева Э.С., Данцюк Н.В., Чубчикова И.Н., Дробецкая И.В., Минюк Г.С.*Институт морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского. Пр. Нахимова, 2, Севастополь, Россия  
[elina.chelebieva@gmail.com](mailto:elina.chelebieva@gmail.com)

Получение кетокаротиноида астаксантина (Аст) из микроводорослей как альтернатива его производству путем химического синтеза является новой, интенсивно развивающейся отраслью современной биотехнологии. Актуальность исследований в этом направлении обусловлена более высокой биологической активностью и безопасностью природной формы Аст, широко востребованной в медицине, производстве БАД, продуктов функционального питания, кормов для аквакультуры и косметики. Эврибионтные и экстремофильные микроводоросли (главным образом Chlorophyta) накапливают Аст в условиях абиотического стресса в процессе вторичного каротиногенеза (ВКГ), сопряженного с переходом вегетативных клеток в стадию покоя. Среди нескольких десятков известных в настоящее время продуцентов Аст наибольший научно-практический интерес имеют два представителя порядка Volvocales *Haematococcus pluvialis* Fltow 1984 и *Ettlia carotinos* J. Komárek 1989. Исследованиям физиологии и метаболизма *H. pluvialis* посвящены сотни работ, послуживших в конечном итоге научной основой для разработки промышленных технологий массового культивирования этого вида. *E. carotinos* – новый, по некоторым оценкам весьма перспективный, но вместе с тем дискуссионный объект, привлекая к себе внимание лишь в недавнее время. Центром дискуссий последних лет является таксономический статус *E. carotinos*. Ряд авторов на основании сходства морфологии неподвижных вегетативных клеток и покоящихся стадий у *E. carotinos* и *H. pluvialis*, а также их генетической близости по нуклеотидной последовательности 18S и 26S рНК считают *E. carotinos* или синонимом *H. pluvialis*, или новым видом рода *Haematococcus*. Их оппоненты указывают на явные различия в строении зооспор и нуклеотидной последовательности ITS2 и настаивают на сохранении сложившегося status quo. Важную информацию для решения данной проблемы могут дать результаты сравнительного анализа морфо-биологических и физиолого-биохимических характеристик водорослей при культивировании в сходных условиях. Такие сведения позволяют также в первом приближении оценить продукционный потенциал нового объекта в сравнении с известным промышленным видом, что и являлось главными задачами данной работы.

Для минимизации различий, связанных с географическим происхождением, методами и длительностью коллекционного хранения водорослей, были использованы штаммы F. Mainx, выделенные в одном и том же регионе (Чехия, район Праги) примерно в одно и то же время (1929-1931 гг.) и хранившиеся до настоящего времени в сходных условиях на агаризованных средах. *H. pluvialis* (штамм LABIK 927-1 = SAG 34-1b = UTEX-16) и *E. carotinos* (штамм АСКУ 573-06 = SAG 213-4, ССАР 213/4, UTEX 113) выращивали на модифицированной среде ОНМ по двухстадийной схеме, разработанной в ИМБИ для скрининга каротиногенных видов. Для индукции ВКГ в клетках водорослей автотрофные накопительные культуры на поздней стационарной фазе роста подвергают комплексному стресс-воздействию, включающему острый дефицит питания, резкий положительный градиент освещенности и внесение в среду ацетата натрия (NaAc) в качестве промотора окислительного стресса. Такой подход позволил выявить ряд специфических особенностей роста и адаптивных реакций *E. carotinos*, не характерных для имеющихся в нашей лаборатории семи штаммов *H. pluvialis* (включая LABIK 927-1). Прежде всего следует указать на необычно медленную адаптацию миксотрофных культур *E. carotinos*, хранящихся на агаризованных средах, к жидким минеральным средам, требующую многократных еженедельных пересевов на протяжении 5-6 месяцев. Полученные таким образом активно делящиеся культуры, сопоставимые по скорости автотрофного роста с *H. pluvialis* или даже несколько превосходящие его по данному признаку, характеризуются крайне высокой фенотипической и функциональной гетерогенностью и наличием Аст в вегетативных клетках. Прорастание покоящихся красных апланоспор при их помещении в благоприятные условия у *H. pluvialis* начинается уже через несколько часов, а у *E. carotinos* – только через несколько суток. Еще одним существенным отличием *E. carotinos* от *H. pluvialis* является специфическая реакция водоросли на однотипный способ индукции ВКГ с использованием NaAc в концентрации 50 ммоль. У *H. pluvialis* этот прием вызывает массовую гибель молодых клеток (до 45% исходной численности), прекращение деления и увеличение средних объемов выживших клеток. В культурах *E. carotinos*, напротив, наблюдается активная споруляция, приводящая к увеличению численности клеток в 3 раза и уменьшению их объемов  $\approx$  в 4 раза. Благодаря отсутствию потерь при стрессе продуктивность культур по биомассе и выход каротиноидов (Кар) из литра исходной культуры у *E. carotinos* (6-6.5 мг/(л·сут)) почти вдвое выше, чем у *H. pluvialis*. Однако доля эфиров Аст в суммарных Кар у этого вида составляет лишь 60-65 % против 80-90 % *H. pluvialis*. В то же время в составе вторичных Кар этилии регистрируются значительные количества интермедиатов биосинтеза Аст, среди которых наиболее заметную роль играют кантаксантин (7-10% от суммы), эфиры адонирубина (8-10%) и  $\beta$ -каротин (6-10%). У *H. pluvialis* эти каротиноиды обнаруживаются, как правило, в минорных или следовых количествах.

По нашему мнению, полученные результаты могут служить дополнительными аргументами в пользу сохранения современного таксономического статуса *E. carotinos* и необходимости продолжения физиолого-биохимических исследований данного вида как потенциального источника природного Аст.

**Особенности реакции теплолюбивых растений на низкотемпературные воздействия разного типа***Шибалева Т.Г., Икконен Е.Н., Шерудило Е.Г., Титов А.Ф.*Институт биологии Карельского научного центра РАН, Пушкинская ул., 11, Петрозаводск, Россия  
[shibaeva@krc.karelia.ru](mailto:shibaeva@krc.karelia.ru)

В многочисленных исследованиях, направленных на изучение устойчивости и адаптации растений к холоду, как правило, используют постоянное действие низкой температуры и достаточно длительные экспозиции (сутки и более). Между тем, теплолюбивые растения ни в естественных условиях, ни при выращивании в теплицах, не испытывают многосуточного постоянного действия низкой температуры, которое не чередовалось бы с более теплыми периодами, хотя бы в силу существования суточного градиента температуры. Поэтому для естественных условий более типичной является ситуация, когда растения подвергаются кратковременному (часы) воздействию низких температур и когда при относительно высоких значениях среднесуточной температуры наблюдаются резкие падения температуры в ночное время или в предутренние часы. Примерно такие же перепады температур по интенсивности сравнительно давно используются в практике растениеводства для управления ростом растений. Например, ежесуточные кратковременные понижения температуры до закаливающих значений (ДРОП, от англ. *drop* – падение) широко применяются как агроприем, направленный на получение компактной, более жизнеспособной рассады овощных культур, клумбовых и цветочных растений. При этом температуру обычно снижают на 5–15°C на 2–3 ч в конце ночи. Во многих случаях это позволяет полностью или, по крайней мере, частично отказаться от применения ретардантов.

Сравнительное изучение длительного постоянного (6 сут) и кратковременного (3 ч) ежесуточно повторяющегося воздействия низких положительных температур (9° и 12°C) на растения огурца (*Cucumis sativus* L.) показало, что ДРОП-воздействия с температурами из зоны холодого закаливания (9° и 12°C, соответственно, ДРОП 9 и ДРОП 12) приводят к уменьшению линейных размеров растений (по отношению к контролю) и увеличению холодоустойчивости листьев, но не влияют на их фотосинтетическую активность и водный режим. При постоянном действии этих же температур (ПНТ 9 и ПНТ 12) на растения их эффекты оказались существенно разными. ПНТ 9 практически полностью тормозила рост и развитие растений, инактивировала работу фотосинтетического аппарата (ФСА), увеличивала относительный выход электролитов (ОВЭ) и усиливала перекисное окисление липидов (ПОЛ). ПНТ 12 также вызывала значительное торможение роста растений в высоту и площади листьев и снижала, но не инактивировала работу ФСА, не усиливала ПОЛ и не увеличивала ОВЭ. Существенно, что по окончании холодовых воздействий, растения варианта ПНТ 9, в отличие от варианта ПНТ 12, оказались неспособными к быстрому возобновлению роста и фотосинтетической активности. Предполагается, что столь значительные различия в реакции растений на разные режимы низкотемпературных воздействий (длительное постоянное или кратковременные ежесуточные) объясняются тем, что при ДРОП-воздействиях относительно кратковременное (3 ч) охлаждение растений чередуется в суточном цикле с продолжительным периодом (21 ч) действия оптимальной температуры, в течение которого происходит восстановление возможных отклонений и/или нарушений в ФСА, а также в этот период метаболизируются и/или нейтрализуются токсические вещества, если они появились под влиянием холода.

Значительные различия в реакции растений на постоянное действие температуры 9° и 12°C предположительно связаны с тем, что эти температуры находятся по разные стороны от критической (10°C), ниже которой у теплолюбивых растений обычно происходит фазовый переход мембран из жидкокристаллического в геле-состояние, приводящий к увеличению проницаемости мембран, нарушению обменных процессов, накоплению токсических веществ, остановке движения цитоплазмы и пр.

Таким образом, исходя из совокупности полученных результатов и анализа литературы можно заключить, что реакция растений огурца на ДРОП отличается хорошо выраженной спецификой, которая, прежде всего, обусловлена тем, что при ДРОП-воздействиях периоды, когда охлаждение запускает в клетках и тканях их надземных органов программу адаптационных изменений (сопряженную с торможением роста и развития), чередуются в суточном цикле с гораздо более продолжительными периодами действия оптимальной температуры, при которой происходит репрограммирование и возобновление ростовой и онтогенетической программ. В результате этого растения под влиянием ДРОП становятся более компактными, не снижая при этом скорости фотосинтеза и приобретая более высокую холодоустойчивость. Поскольку корни растений при ДРОП-воздействиях не успевают охладиться, то нарушения процессов, связанных с их работой (водный режим, гормональные взаимодействия корней и побегов и т.д.), не происходит. Следовательно, правильно подобрав температуру, продолжительность и время ее действия в суточном цикле, можно с помощью ДРОП существенно улучшить качество рассады тепличных овощных и цветочных культур.

Еще один вывод, который следует из данной работы, заключается в том, что границы температурных зон (зоны холодого закаливания и зоны холодого повреждения), установленные ранее в опытах с постоянным продолжительным действием низких температур, в том числе и для огурца, являются весьма относительными. При кратковременных ежесуточно повторяющихся низкотемпературных воздействиях (ДРОП) эти границы существенно смещаются в область более низких температур и это важно учитывать при выборе значений температуры в разных по своим целям и задачам экспериментах.

## Актиномицеты в ризосфере некоторых сельскохозяйственных растений

Широких И.Г.

Вятский государственный университет, Московская ул., 36, Киров, Россия  
Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Коммунистическая ул., 28, Сыктывкар, Россия  
[irgenal@mail.ru](mailto:irgenal@mail.ru)

Актиномицеты – грамположительные спорообразующие гетеротрофные бактерии, принадлежащие к классу Actinobacteria, порядку Actinomycetales, способны колонизировать корни и оказывать на растения воздействие посредством синтеза антибиотиков и других соединений вторичного метаболизма (фунгициды, сидерофоры, сигнальные молекулы, модуляторы иммунного ответа, витамины и фитогормоны). Актуальность изучения взаимоотношений актиномицетов с высшими растениями определяется тем, что создает предпосылки для решения важнейшей в теоретическом и практическом отношении задачи управления той «биологической средой», в которой развиваются растения. К числу важнейших аспектов взаимодействия мицелиальных прокариот с растением относятся роль актиномицетов в регуляции численности и состава его микрофлоры (контроль фитопатогенов) и повышение устойчивости к разнообразным эдафическим стрессам. В связи с этим в лабораторных, вегетационных и полевых экспериментах изучали актиномицетные комплексы ризосферы ряда сельскохозяйственных культур: ячменя, овса, озимой ржи, табака, томата и клевера лугового.

Результаты проведенных исследований показали, что актиномицеты являются постоянным компонентом не только почвенных, но и ризосферных (включая эндоризосферу) микробных сообществ. Их численность в ризосфере растений, выращенных на дерново-подзолистой почве, по данным посева, варьирует от сотен тысяч до миллионов колониеобразующих единиц, а длина актиномицетного мицелия, по данным люминесцентной микроскопии, изменяется от сотен до тысяч метров на 1 г корней, в зависимости от вида, сорта, фазы развития растений и почвенной кислотности. С использованием селективных приемов показано, что в ризосфере исследованных растений постоянно обнаруживаются представители родов *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Streptosporangium* и актиномицеты, условно объединяемые нами в группу олигоспоровых. В эндоризосфере озимой ржи, наряду со стрептомицетами и микромоноспорами, с высокой частотой встречались коринеформные бактерии *Curtobacterium plantarum* и *Cellulomonas* sp. В присутствии 2 мг/мл L-триптофана изоляты коринеформных бактерий продуцировали в среду индолил-3-уксусную кислоту в количестве от 9 до 95 мкг/мл, изоляты актиномицетов – от 39 до 83 мкг/мл.

Ризосферные комплексы различных сельскохозяйственных растений различаются между собой и существенно отличаются от комплекса актиномицетов в свободной от корней почве. Так, для ризосферы озимой ржи характерны высокая частота доминирования (до 60%) и доля участия (до 70%) представителей рода *Micromonospora*, высокое доленое участие актиномицетов рода *Streptosporangium* (до 28%) и олигоспоровых форм (до 19%), тогда как в комплексах яровых зерновых культур и клевера лугового доминантами являются стрептомицеты. Комплексы стрептомицетов прикорневой зоны растений имеют, как правило, более высокое видовое разнообразие ( $H=1,1-2,0$ ), чем почвенный комплекс ( $H=0,3-1,2$ ). Но даже при относительно высоком сходстве таксономической структуры комплексы мицелиальных прокариот, ассоциированные с корнями генотипически различных растений, значительно различаются по своим функциональным проявлениям: широте спектров утилизации источников углерода и антагонистического действия. Таксономическая структура комплекса ассоциированных с растением актиномицетов существенно изменяется в процессе его онтогенеза. В ризосфере молодых растений реже, чем в ризосфере возрастных, встречаются антагонисты фитопатогенных грибов и актиномицеты, продуцирующие индольные соединения (ауксины).

В качестве общей тенденции отмечено, что в ризосфере чаще, чем среди почвенных актиномицетов встречаются виды-антагонисты фитопатогенных грибов (10-90% против 20-30% в почве) и виды, способные усваивать органические кислоты (уксусную и щавелевую), являющиеся компонентами корневых выделений растений (16-73% против 0-30% в почве).

Заселение актиномицетами корней зависит от типа экологической стратегии, реализуемой представителями различных родов мицелиальных прокариот, а также видовых и сортовых особенностей растения-хозяина. Причинами вызванных различий в освоении прикорневого пространства растения-хозяина могут быть различия в кинетике роста и спектре утилизации этими актиномицетами сахаров и органических кислот.

В опытах *in vitro* показано влияние *S. platensis* на формирование симбиоза клевера лугового с клубеньковыми бактериями *Rhizobium leguminosarum*. Природный изолят способствовал достоверному увеличению количества клубеньков на корнях в условиях, когда единственным источником углерода в среде служили корневые выделения растений.

В результате инокуляции семян культурой *S. hygrosopicus* – изолята из ризосферы овса Аргмак, выращенного на кислой дерново-подзолистой почве – существенно улучшались морфометрические и биохимические показатели, снижалось поражение фитопатогенными грибами растений овса, пшеницы и ячменя, выращенных в условиях той же почвы. Рекомендуются в связи с этим к использованию в качестве биоконтрольного препарата штамм характеризовался способностью продуцировать в среду ИУК в присутствии 2 мг/мл L-триптофана.

## Исследование скоростей гидратазного и дегидратазного направлений карбоангидразной активности в фотосистеме 2

Шитов А.В., Терентьев В.В., Климов В.В.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, 142290, ул. Институтская, 2, Пущино, Московская обл.,  
Россия  
[aleksshitow@rambler.ru](mailto:aleksshitow@rambler.ru)

Пигмент-белковый комплекс фотосистемы 2 (ФС-2) является одной из важнейших ферментативных систем тилакоидной мембраны, обеспечивающих продуктивность растений. Исходя из этого, исследование механизма функционирования этого комплекса является важной фундаментальной задачей.

На сегодняшний день хорошо известно, что ФС-2 обладает гидратазной карбоангидразной активностью. В ряде работ достоверно показано, что эта активность важна для обеспечения максимальной фотосинтетической активности ФС-2, несмотря на то, что эта активность относительно низка (10-15 ед. Вильбура-Андерсона/мг хлорофилла). Ранее было показано, что ФС-2 также может проявлять дегидратазную карбоангидразную активность, но использовавшиеся для её определения методы были либо недостаточно чувствительны, либо давали не совсем точные результаты.

Для работы с ФС-2 нами был адаптирован новый метод измерения дегидратазной карбоангидразной активности, основанный на регистрации изменений рН во время реакции с помощью специального флуоресцентного рН-индикатора – пиранина (8-гидроксипирен-1,3,6-трисульфат). Поскольку во время дегидратазной реакции изменения кислотности протекают с высокой скоростью, для их точной регистрации был использован прибор быстрого смешивания – «Stop-flow» (использующий метод «остановленного потока» для равномерного и точного смешивания компонентов реакционной смеси). Эта установка была присоединена к спектрофлуориметру и позволяла фиксировать быстрые изменения флуоресценции пиранина (свидетельствующие об изменении рН) с высоким временным разрешением.

Объектом исследования являлись препараты тилакоидных мембран, обогащённые ФС-2, выделенные из 2-х недельных проростков гороха посевного (*Pisum sativum*).

Было установлено, что данные препараты ФС-2 проявляют дегидратазную карбоангидразную активность, величина которой гораздо выше гидратазной активности –  $400 \pm 5$  ед. Вильбура-Андерсона/мг хлорофилла и сравнима с высокоактивными альфа-карбоангидразами (альфа-карбоангидраза II из эритроцитов быка проявляет активность 2000-2500 ед. Вильбура-Андерсона/мг белка). Таким образом, измеренная нами активность ФС-2 всего в 5-6 раз меньше активности карбоангидразы из эритроцитов (гидратазная карбоангидразная активность ФС-2 в 130-140 раз ниже активности этой карбоангидразы). Исходя из этого можно предположить, что дегидратазная карбоангидразная активность более важна для оптимального функционирования ФС-2 чем гидратазная. Благодаря тому, что адаптированный нами метод позволяет регистрировать дегидратазную карбоангидразную активность ФС-2 с высокой точностью, впервые были определены константа Михаэлиса, максимальная скорость и другие кинетические параметры дегидратазной реакции в ФС-2. Константа Михаэлиса ( $K_m$ ) составляла 3,3 мМ. Такое значение  $K_m$  свидетельствует о высоком сродстве ФС-2 к ионам бикарбоната (выше, чем у многих известных карбоангидраз). Этот результат согласуется с более ранними данными о необходимости ионов бикарбоната для функционирования фотосистемы 2, полученными другими методами. Максимальная скорость ( $V_{max}$ ) составляла  $9,3 \cdot 10^{-3}$  дрН/сек или  $8,4 \cdot 10^{-6}$  мМ/сек. Полученное значение  $V_{max}$  ниже, чем у известных высокоактивных карбоангидраз. Это может объясняться диффузионными ограничениями к проникновению субстрата реакции (ионов бикарбоната) в ФС-2, поскольку большая часть полипептидных цепей комплекса обладает гидрофобными свойствами. Дальнейшее исследование дегидратазной карбоангидразной активности ФС-2 и её отдельных компонентов позволит приблизиться к пониманию механизма работы этого комплекса и будет шагом на пути к повышению продуктивности сельскохозяйственных растений.

Работа выполнена при частичной поддержке проектов РФФИ № 16-34-60028 мол\_а\_дк и № 17-04-01011 А.

# Стендовые доклады

## Адаптивность интрогрессивных форм пшеницы по устойчивости к болезням, NDVI и продуктивности

Абугалиева А.И., Кожяхметов К., Масимгазиева А.С., Чудинов В.А.\*

Казахский научно-исследовательский институт земледелия и растениеводства, Казахстан, Алматинская область, п.Алматыбак

\*Карабалыкская СХОС, Казахстан, Костанайская область, п.Научный  
[kiz\\_abugalieva@mail.ru](mailto:kiz_abugalieva@mail.ru)

Питомник сортообразцов, устойчивых к бурой листовой ржавчине сорта яровой мягкой пшеницы в происхождение которых входят источники устойчивости к бурой и листовой ржавчине полученные от диких сородичей пшеницы, а также сортообразцы полбы. Результаты исследований питомника показаны в таблице 4.

На фоне эпифитотии бурой листовой ржавчины, сложившейся в климатических условиях Карабалыкской СХОС текущего года среди состава питомника комплексную устойчивость к двум видам ржавчины имели сорта *Фараон*, *Дива*, *Умай* (0-5%). Из числа образцов яровой мягкой пшеницы полученных от скрещивания с дикими сородичами устойчивостью отличились *6625 x Tr. Timopheevi* и *Казахстанская 10 x Tr. Dicoccum* (5-15%). Поражение стандартных сортов составило 100%.

В урожае 2016 г. с повышенным уровнем осадков и эпифитотии в блоке по устойчивости отличились нулевым поражением бурой ржавчины: *Дива*, *Умай* – сорта пшеницы, *греммэ* – сорт полбы и 5%-ным поражением сорт полбы *Фараон*, генотип *6625 x Tr. timopheevi* (в условиях Карабалыка).

В блоке синтетиков минимальным поражением ржавчиной отличались генотипы: *6631 x Tr. timopheevi* (0-5%); *6628 x Tr. timopheevi* и *6569 x Tr. militinae-1* (5-10%); *6625 x Tr. timopheevi-1* (10-15%).

По минимальному поражению мучнистой росой выделены генотипы: *Казахстанская 10 x Tr. timopheevi*; *6631 x Tr. timopheevi* (0-5%); *6625 x Tr. timopheevi-2* (10-15%).

На уровне блока продвинутых номеров бурой ржавчиной генотипы практически не поражались бурой ржавчиной, кроме стандарта *Казахстанская 10* (10%) и *6628 x Tr. timopheevi* (50%), а стеблевой ржавчиной на уровне 5% и эти же генотипы составляли исключение (75% и 10% соответственно).

На базе международного питомника СИММИТ (таблица 6) по сравнительному испытанию исходных форм, сортов-стандартов, диких сородичей и синтетических форм выделены устойчивые сородичи: *Tr. kiharae* 0/20 MS; *Tr. timopheevi* – 0/20 MS и *Tr. dicoccum* 5 MS; исходные формы: *Ильинская x Tr. timopheevi* (0-10 MS); *Казахстанская раннеспелая x Tr. timopheevi*; *6683 x Tr. timopheevi* (0-10 MS) и *Казахстанская 10 x Tr. dicoccum* (0%).

К этим номерам в блоке синтетических пшениц добавляются генотипы: *Казахстанская 25 x Tr. timopheevi-1*; *Казахстанская 25 x Tr. timopheevi-2*; *6569 x Tr. militinae-1*; *6569 x Tr. militinae-2*; *6625 x Tr. timopheevi-2*; *6631 x Tr. timopheevi*; *6631 x Tr. militinae*; *Казахстанская 10 x Tr. timopheevi-2*.

Таким образом, по 2-ум репродукциям выделены генотипы по NDVI по устойчивости к ржавчине с урожайностью на уровне 30-42 ц/га на юге и 40-44 ц/га на севере соответственно.

По результатам изучения переходных форм (6 x 2 = 12), синтетических форм (25) и продвинутых (11) форм яровой мягкой пшеницы с участием гермоплазмы диких сородичей составлена база данных по 1) NDVI фенотипированию в процессе вегетации по 2 годам и 2 регионам (Юг и Север) по 7-11 замерам; 2) продуктивным свойствам (вегетационный период, высота растений, масса зерна с растения, количество зерен с растения, урожайность); 3) устойчивости к болезням (бурая и листовая ржавчина, мучнистая роса, стеблевая ржавчина); 4) показателям засухоустойчивости (длина последнего междоузлия и масса 1000 зерен).

На основе анализа базы данных выделены: 1) линии – источники к болезням (на естественном фоне) требующие подтверждения на искусственном фоне и генетического анализа; 2) линии с высоким NDVI потенциалом – подтвердившие высокую урожайность и переведенные соответственно в более старшие питомники селекционного процесса с одновременным размножением индивидуальных сибсов; 3) генотипы для регистрации и патентования новых форм (высокоурожайных и устойчивых) на новизну, отличимость и однородность: *Тим-бидай* и *Гунтикум*.

## Значение протеомных перестроек в формировании индуцированной 24-эпибрассинолидом устойчивости проростков к обезвоживанию в контрастных по засухоустойчивости сортах пшеницы

*Авальбаев А.М., Федорова К.А., Юлдашев Р.А., Аллагулова Ч.Р., Гильманова Р.И.\*, Петрова Н.В.\*, Федина Е.О.\*, Каримова Ф.Г.\*, Шакирова Ф.М.*

Институт биохимии и генетики УНЦ РАН. Пр. Октября, 71, Уфа, Россия;

\*Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН. Лобачевского ул., 2/31, Казань, Россия  
[avalbaev@yahoo.com](mailto:avalbaev@yahoo.com)

Полученные нами данные о сочетании у 24-эпибрассинолида (ЭБ) ростстимулирующего в норме и защитного эффектов при засухе на растения пшеницы контрастных по засухоустойчивости сортов Омская-35 (О-35, устойчивый) и Салават Юлаев (СЮ, неустойчивый) свидетельствуют об его активном воздействии на протеом. Методом двумерного электрофореза проведен сравнительный анализ вызываемых ЭБ перестроек в протеоме побегов проростков сортов О-35 и СЮ как в норме, так и при вызываемой 5%-ным маннитом засухе. Обработка ЭБ приводила к увеличению уровня большого количества белков в широком диапазоне М.м. и рI, причем у сорта О-35 уровень накопления некоторых полипептидов был заметно выше в сравнении с сортом СЮ. Вероятно, ЭБ-индуцированная стимуляция роста побегов обоих сортов связана с изменением содержания ряда белков, в связи с чем, важно было выяснить, какие именно белки вовлечены в ответ на обработку гормоном. Среди идентифицированных методом MALDI-TOF масс-спектрометрии полипептидов особый интерес вызывают белки фотосинтеза. Так, идентифицированы предшественники полипептида, входящего в состав кислород-выделяющего комплекса фотосистемы II, повышение содержания которого способствует большей устойчивости структуры фотосистемы II. Кроме того, обнаружены белки цикла Кальвина, среди которых выявлены малая и большая субъединицы рибулозобисфосфаткарбоксилазы (РБФК), составляющие основу холофермента РБФК – ключевого фермента фотосинтеза. Обработка ЭБ способствовала также увеличению содержания β-субъединицы РБФК-связывающего белка и активазы РБФК, необходимых для эффективного функционирования холофермента РБФК. Среди индуцируемых в ответ на ЭБ полипептидов были идентифицированы и другие ферменты цикла Кальвина: хлоропластные фруктозо-1,6-бисфосфат альдолаза, фосфоглицерат киназа и транскетолаза. Наряду с белками, участвующими в фотосинтезе, выявлены белки, вовлеченные в рост и энергетический обмен растений. Так, идентифицированы актин, субъединицы тубулина, белок CDC48 (cell division control), которые задействованы в делении клеток. Среди белков, принимающих участие в энергетическом обмене растений, обнаружены различные субъединицы АТФ-синтазы, глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназа, протеинкиназы семейства SHAGGY, хлоропластный рибунуклеопротеин, а также ферменты глутамин синтетазы, аргоната дегидратаза, 5-метилтетрагидроптероилтриглутамат-гомоцистеин метилтрансфераза, задействованные в образовании ряда аминокислот. Таким образом, ЭБ-индуцированное увеличение уровня белков, вовлеченных в фотосинтез, рост и энергетический обмен может способствовать усилению интенсивности метаболизма растений пшеницы, что вносит важный вклад в реализацию ростстимулирующего действия этого гормона. Вместе с тем, воздействие маннита привело к значительным количественным и качественным изменениям в белковом спектре растений пшеницы обоих сортов. У подвергнутых засухе проростков выявлено уменьшение содержания большинства полипептидов, в частности, идентифицированных нами белков фотосинтеза, роста и энергетического обмена растений, что гораздо сильнее выражено у сорта СЮ. Вместе с тем, наблюдалось также и исчезновение ряда полипептидов. Поскольку предпосевная обработка ЭБ оказывала защитный эффект на рост растений пшеницы в условиях засухи, можно было ожидать активацию ЭБ адаптационного потенциала протеома к возможным стрессам. В пользу этого свидетельствуют данные об увеличении в растениях в ответ на саму обработку ЭБ содержания таких защитных белков как хлоропластный пероксиредоксин, L-аскорбат пероксидаза, глутатион-S-трансфераза, белок теплового шока эндоплазм, тогда как в условиях засухи в предобработанных ЭБ проростках обоих сортов уровень накопления этих белков в сравнении с необработанными гормоном растениями был существенно ниже, что указывает на уменьшение стрессовой нагрузки на предобработанные гормоном проростки. На защитный эффект гормона также указывают данные о предотвращении ЭБ стресс-индуцированного снижения уровня белков фотосинтеза, роста и энергетического обмена растений. Вместе с тем, нами обнаружено накопление под влиянием ЭБ таких белков как хлоропластный шаперонин с М.м. 20 кДа, участвующий в фолдинге хлоропластных белков и их защите при действии негативных факторов, а также полипептида PINB-2v2-2 из семейства PINB (пуриноидолины В) белков и ризин-подобного лектина, способных к выполнению защитных функций. Вместе с тем, у предобработанных гормоном проростков, особенно у сорта О-35, в ходе воздействия маннита наблюдалась дополнительная аккумуляция этих белков, что, по-видимому, обеспечивает дополнительную защиту структурам клеток, в частности белкам, от негативного действия засухи. Следовательно, ЭБ играет важную роль в регуляции активации белкового метаболизма, лежащего в основе проявления его ростстимулирующего и формирования преадаптирующего, а также защитного эффектов на проростки пшеницы, что в целом отражается в предотвращении резких стресс-индуцированных сдвигов в протеоме ЭБ-предобработанных растений пшеницы сортов О-35 и СЮ.

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

**Роль цитокининов в защитном действии метилжасмоната на протеом и тирозиновый фосфопротеом проростков пшеницы в условиях обезвоживания**

*Авалбаев А.М., Юлдашев Р.А., Федорова К.А., Аллагулова Ч.Р., Гильманова Р.И.\*, Каримова Ф.Г.\*, Шакирова Ф.М.*

Институт биохимии и генетики УНЦ РАН. Пр. Октября, 71, Уфа, Россия;

\*Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН. Лобачевского ул., 2/31, Казань, Россия  
[avalbaev@yahoo.com](mailto:avalbaev@yahoo.com)

Ранее нами было выявлено, что обработка проростков пшеницы метилжасмонатом (МеЖ) в оптимальной в стимуляции роста концентрации 100 нМ вызывает быстрое обратимое накопление цитокининов (ЦК) в норме и предотвращает снижение их уровня в подвергнутых стрессу растениях, что свидетельствует в пользу важной роли эндогенных ЦК в реализации физиологического действия МеЖ на растения пшеницы. В связи с этим, для выявления значения эндогенных цитокининов в проявлении рост-стимулирующего и антистрессового действия метилжасмоната на растения пшеницы проведен сравнительный анализ действия МеЖ и цитокинина 6-бензиламинопурина (БАП) на распределение растворимых белков побегов проростков пшеницы и уровень их фосфорилирования по тирозину в норме и в условиях обезвоживания. Выявлено, что исследуемые фитогормоны в оптимальных в стимуляции роста концентрациях оказывают сопоставимый активирующий эффект на протеом проростков пшеницы, о чем свидетельствует интенсификация сигналов ряда белков, в частности, участвующих в фотосинтезе (малая и большая субъединицы рибулозобисфосфат карбоксилазы (РБФК), хлоропластная фруктозобисфосфат альдодаза, активиза РБФК, РБФК-связывающий белок), а также в регуляции роста и энергетического обмена растений (актин,  $\alpha$ - и  $\beta$ -тубулин, рибонуклеопротеин,  $\beta$ -субъединица АТФ-синтазы). В то же время, МеЖ и БАП вызывают значительные изменения в тирозиновом фосфорилировании белков растений пшеницы. Однако, обнаружены различия в уровне фосфорилирования полипептидов по тирозину под влиянием обработки этими фитогормонами, что, несмотря на их сопоставимый ростстимулирующий эффект, указывает на различие в их сигналлинге. Воздействие обезвоживания, существенно тормозящего рост проростков, вызвало уменьшение уровня большинства белков, в том числе, идентифицированных нами белков фотосинтеза, роста и энергетического обмена растений, а также исчезновение ряда полипептидов. Вместе с тем, в условиях обезвоживания было выявлено значительное снижение уровня фосфорилирования белков по тирозину и драматическое уменьшение количества фосфотирозиновых белков в побегах проростков пшеницы, что может свидетельствовать о серьезном нарушении в них клеточной сигнализации, с чем может быть связано резкое торможение роста проростков при стрессе. Предобработка растений МеЖ и БАП способствовала в равной степени снижению негативного влияния дефицита влаги на их рост и адаптации протеома и фосфопротеома к действию стресса. В пользу этого свидетельствуют данные об уменьшении в условиях обезвоживания в предобработанных фитогормонами проростках уровня накопления таких защитных белков как 2-цис-пероксиредоксин, шаперонин, L-аскорбат пероксидаза, глутатион-S-трансфераза в сравнении с необработанными растениями. Вместе с тем, предобработка МеЖ и БАП предотвращала стресс-индуцированное падение содержания белков фотосинтеза, роста и энергетического обмена растений, а также резкое снижение уровня тирозинового фосфорилирования и количества фосфотирозиновых полипептидов. Таким образом, полученные результаты демонстрируют сопоставимую регуляторную роль МеЖ и БАП в активации белкового метаболизма, лежащего в основе проявления их ростстимулирующего и защитного эффектов на проростки и указывают в пользу участия эндогенных цитокининов в регуляции физиологического действия метилжасмоната на растения пшеницы. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 17-04-01853\_a).



**Каротиноиды фотосинтетического аппарата ячменя (*Hordeum vulgare* L.) при выращивании на узкополосном красном и синем свете**

*Аверчева О.В., Бассарская Е.М., Кочетова Г.В., Жигалова Т.В., Соловченко А.Е., Чивкунова О.Б.*

ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, биологический факультет  
Ленинские горы, д. 1, стр. 12, Москва, Россия  
[olga.avercheva@gmail.com](mailto:olga.avercheva@gmail.com)

Исследовали содержание и состав каротиноидов в первом листе 9-дневных проростков ячменя, выращенных при освещении светодиодами с максимумом испускания 450 нм, полуширина 24 нм (синий свет, СС-вариант) и 660 нм, полуширина 16 нм (красный свет, КС-вариант). Контролем служили растения, выращенные под люминесцентными лампами (белый свет, БС-вариант). Плотность потока квантов на уровне верхней части посева — около 70 мкмоль/(м<sup>2</sup>·с), фотопериод — 16/8 часов. На узкополосном синем и красном свете наблюдали снижение общего содержания каротиноидов (Кар) на 10–15% в сравнении с контрольными растениями. В то же время отношение Хл/Кар у растений БС- и КС-вариантов было практически одинаковым, у растений СС-варианта — на 4% ниже контроля. Определение методом ВЭЖХ состава и соотношения отдельных групп каротиноидов у растений в стационарных условиях освещения при интенсивности света 70 мкмоль/(м<sup>2</sup>·с) не выявило различий между исследованными световыми вариантами. При этом уровень дезоксидации каротиноидов виолаксантинового цикла у всех растений достоверно не отличался и составлял 13–15%. Освещение листьев ячменя белым светом высокой интенсивности (1500 мкмоль квантов/(м<sup>2</sup>·с) в течение 15 мин) увеличивало уровень дезоксидации каротиноидов до 44–48% у всех исследованных вариантов. Таким образом, при выращивании растений ячменя под узкополосным красным и синем светом происходило небольшое снижение общего содержания каротиноидов в первом листе ячменя по сравнению с контролем — растениями, выращенными под белым светом. При этом состав и соотношение отдельных каротиноидов не зависели от спектрального состава света, используемого для выращивания растений. В наших экспериментальных условиях узкополосное освещение не оказывало специфического влияния на исследованные характеристики пигментного аппарата *H. vulgare* при выбранной интенсивности освещения.

Работа выполнена при поддержке грантом РФФИ 14-04-31823 мол\_а и при частичной финансовой поддержке РФФ (грант 14-50-00029).

## Исследование экспрессии генов гиббереллинового метаболизма у линий риса с различной устойчивостью к полному затоплению

Азарин К.В., Усатов А.В., Макаренко М.С., Костылев П.И. \*, Хачумов В.А., Ковалевич А.А.

Южный федеральный университет, пр. Стачки, 194/1, Ростов-на-Дону, Россия;

\*ВНИИ зерновых культур им. И.Г. Калиненко, Науч. городок, 3, Зерноград, Россия

[azkir@rambler.ru](mailto:azkir@rambler.ru)

Рис обычно выращивают на затопляемых анаэробных почвах, но даже эта культура чувствительна к полному затоплению. Один из механизмов устойчивости риса к данному стресс-фактору реализуется посредством быстрого достижения поверхности воды за счет высокой интенсивности роста. Как известно, удлинение побегов растений контролирует группа фитогормонов – гиббереллинов. Однако вопрос активности гиббереллинового метаболизма в условиях затопления остается на сегодня мало изученным.

Целью работы был сравнительный анализ уровня экспрессии генов гиббереллинового метаболизма у риса в условиях полного затопления.

Объектом исследования служили чувствительный к водному стрессу сорт-стандарт Боярин с умеренным ростом и устойчивая форма Бахус с высокой интенсивностью роста в условиях полного затопления. Глубоководное затопление моделировали в аквариуме при толщине слоя воды 30 см. Контрольные растения выращивали в условиях нормальной аэрации. Анализ уровня экспрессии генов *CPS*, *KS*, *GA20ox1*, *GA20ox2*, *GA20ox4*, *GA20ox3*, *GA20ox4*, *GA20ox8* проводили через 4, 6, 48 и 92 часа после начала эксперимента. Через 4 часа затопления в опытной группе происходит достоверное увеличение экспрессии всех исследуемых генов, однако степень такого повышения была различна у чувствительной и устойчивой формы. Так у растений Бахус уровень экспрессии генов биосинтеза гиббереллинов *KS*, *GA20ox1*, *GA20ox2*, *GA20ox4* увеличивается в 10-15 раз, в то время как у сорта Боярин – в 2-4 раза. С другой стороны уровень транскрипционной активности генов инактивации гиббереллинов *GA20ox3*, *GA20ox4*, *GA20ox8* в условиях затопления был выше в растениях Боярин. Через 6 часов эксперимента в опыте у растений сорта Боярин происходит снижение экспрессии *CPS* и *KS* – генов, кодирующих ферменты начальных этапов в цепи синтеза гиббереллинов. Экспрессия генов катаболизма гиббереллинов *GA20ox3*, *GA20ox4*, *GA20ox8* также снижена. Относительно высокой активностью по сравнению с контролем характеризуются гены *GA20ox2* и *GA20ox4* – в 4 и 1,8 раз, соответственно. В тоже время погруженные под воду растения Бахус сохраняют повышенный уровень экспрессии всех исследуемых генов биосинтеза фитогормона. В данном случае наибольший уровень активности отмечен для генов ГК-20-оксидаз (*GA20ox1*, *GA20ox2* и *GA20ox4*) продукт, которых катализирует конечный этап синтеза гиббереллинов. Анализ результатов количественной ПЦР через 48 часов после начала эксперимента выявил у Боярина в среднем трехкратное, а Бахуса – двукратное снижение относительно контроля уровня экспрессии генов как начальных, так и заключительных этапов биосинтеза гиббереллинов. Экспрессия генов инактивации гиббереллинов увеличилась в 1,5-2 раза у обеих исследованных форм. Данные результаты, вероятно, связаны с накоплением в тканях растений активных гиббереллинов, так как известно, что ключевую роль в контроле экспрессии генов гиббереллинового метаболизма играет регуляция их конечным продуктом. Спустя 96 часов в опыте происходит спад транскрипционной активности исследуемых генов, как у растений Боярина, так и Бахуса.

Таким образом, отличительной особенностью устойчивых форм риса по сравнению с чувствительными является сверх экспрессия *GA20ox1*, *GA20ox2*, *GA20ox4* – генов заключительного этапа биосинтеза активных гиббереллинов из ГК<sub>12</sub>, и более низкая активность генов инактивации гиббереллинов *GA20ox3*, *GA20ox4*, *GA20ox8* в первые часы после затопления. Также отмечено поддержание более высокого уровня экспрессии генов *GA20ox1*, *GA20ox2* и *GA20ox4* у растений Бахус в сравнении с Боярином в течение первых 48 часов эксперимента.

Работа выполнена на оборудовании ЦКП «Высокие технологии» ЮФУ и при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации № МК-6123.2016.11.

## Взаимодействие АБК и ГК в процессе роста изолированных зародышевых осей рекальцитрантных семян *Aesculus hippocastanum* L.

Азаркович М.И.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН. Ботаническая ул., 35, Москва, Россия.  
[m-azarkovich@mail.ru](mailto:m-azarkovich@mail.ru)

Ранее было показано, что зародышевые оси, выделенные из зрелых покоящихся рекальцитрантных семян каштана конского (*Aesculus hippocastanum* L.) до и во время их холодной стратификации и инкубированные на воде при 28°, т.е. проращиваемые *in vitro*, сохраняют способность к синтезу белка *in vivo*, претерпевают существенные изменения как в сыром весе, подавляемые циклогексимидом и частично  $\alpha$ -аманитином, так и изменения в полипептидном и фракционном составе суммарного белка, сходные с изменениями, которыми сопровождается процесс проклевывания осей в нативных семенах. Мы полагаем, что совокупность полученных данных свидетельствует о способности изолированных зародышевых осей осуществлять в условиях *in vitro* процессы, способствующие или подготавливающие проклевывание, то есть об их способности к росту. Способность к росту не требует присутствия семядолей и не зависит от холодной обработки семян. Поскольку исходные оси, изолированные на всех этапах стратификации семян, обладали высокой белоксинтезирующей активностью, которая подавлялась циклогексимидом на 90–95%, то можно предположить, что ингибирование циклогексимидом изменений в размерах и сыром весе изолированных осей связано в первую очередь с его действием на синтез белка. Это означает, что наблюдаемый рост изолированных осей является следствием базовых метаболических процессов, а не результатом простой гидратации осей. Таким образом, зародышевые оси в покоящихся (не способных прорасти) рекальцитрантных семенах каштана конского не имеют собственного покоя и обладают ростовой активностью.

Из этого следует, что покой семян каштана конского не является следствием покоя осевых органов, а может быть обусловлен подавлением их ростовой активности сигналами, поступающими из семядолей (а также из семенной кожуры). Действие этих сигналов снимается или каким-то образом преодолевается осями при стратификации семян. В пользу этого свидетельствуют следующие наблюдения. 1. Водные вытяжки из семядолей и семенной кожуры зрелых нестратифицированных семян подавляют ростовую активность осей этих же семян, но менее эффективны в отношении осей, выделенных из семян в конце стратификации. Вытяжки из семядолей и семенной кожуры в конце стратификации не влияли на рост изолированных осей. 2. Ростовая активность изолированных осей зависит от времени стратификации семян: чем продолжительнее время холодной стратификации, тем быстрее изолированные оси прорастали *in vitro* и достигали размеров и других параметров осей естественно проросших семян. Это означает, что физиологическое состояние осей не остается постоянным и изменяется в ходе стратификации. Это может быть обусловлено как действием стратификации на метаболизм в клетках семядолей и снижением потока ингибирующих рост сигналов, так и потерей чувствительности осевых органов к этим сигналам.

По современным представлениям уровень эндогенной АБК или, вернее, динамический баланс двух антагонистических гормонов – АБК и ГК, определяет состояние покоя семян. В данной работе исследовано действие АБК и ГК на рост изолированных зародышевых осей рекальцитрантных семян каштана конского.

Как было показано ранее, АБК (10 мкМ) подавляла рост осей, изолированных из покоящихся семян, и не влияла на рост осей, изолированных из проросших семян. Полученные результаты также показали, что оси, достигшие при проращивании *in vitro* на воде веса 100 мг, росли в присутствии АБК с такой же скоростью, как контрольные, в то время как более мелкие оси интенсивно росли на воде и достоверно медленнее – на АБК.

ГК<sub>3</sub>, ГК<sub>7</sub> и ГК<sub>4+7</sub> в концентрации 10 мкМ не оказывала стимулирующего влияния на рост осей. Некоторое ускорение роста наблюдалось при действии ГК<sub>4+7</sub> в концентрации 50 мкМ.

Опыты по совместному действию фитогормонов показали, что ГК<sub>3</sub> не снимала ингибирующего эффекта АБК, даже при пятикратном (50 мкМ ГК) увеличении концентрации. При переносе с раствора фитогормона на воду оси, росшие на АБК, ускоряли свой рост, но росли медленнее, чем оси, проращиваемые сначала на ГК, а потом на воде.

Ингибитор синтеза ГК хлорхолинхлорид в концентрации 10 мкМ не оказывал влияния на рост осей. Ранее было установлено, что ингибитор синтеза АБК флуридон не влиял на рост изолированных осей семян каштана. Можно предположить, что фитогормоны АБК и ГК не синтезируются непосредственно в растущих частях зародыша, а поступают туда из семядолей.

Анализ полученных результатов говорит о том, что изолированные зародышевые оси, не имеющие собственного покоя и обладающие ростовой активностью, в присутствии экзогенной АБК утрачивают способность к росту и переходят в состояние глубокого покоя. На основании этого АБК можно рассматривать как фактор, обеспечивающий покой осевых органов. При контакте осей с семядолями в интактных семенах наблюдается тот же эффект, что может говорить о сходстве механизмов, а также о том, что именно поступление АБК из семядолей обеспечивает состояние покоя осей и зародыша в целом. Это свидетельствует об участии семядолей в поддержании покоя зародыша. Высокая влажность покоящихся семян, обусловленная их рекальцитрантностью, разрешает метаболическую коммуникацию частей зародыша.

## Влияние наночастиц биогенного ферригидрита на инициацию соматического эмбриогенеза у сосны обыкновенной и сосны сибирской

Аксиненко М.А. \* \*\*, Носкова Н.Е. \*, Носкова М.А. \* \*\*

\* - ФГБОУ ВО «Красноярский аграрный университет», пр. Мира 90, г. Красноярск, Россия

\*\* - ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет», пр. Свободный 79, г. Красноярск, Россия  
[aksn2008@gmail.com](mailto:aksn2008@gmail.com)

Биотехнология соматического эмбриогенеза широко используется в мире, как способ размножения экономически важных видов хвойных, и служит ключевой технологией для создания лесонасаждений с использованием испытанных селекционных генотипов. Вместе с тем, ведутся фундаментальные исследования, раскрывающие роль физических и химических факторов в регуляции соматического эмбриогенеза, генетических аспектов и маркеров, особенности физиологии, клеточной и молекулярной биологии процесса. Однако остаются многие вопросы, требующие доработки. Для представителей рода сосновых – это низкая частота инициации, проблема дифференциации ранних соматических зародышей, получение нормальных семядольных зародышей и др. Слабый отклик на индукционных средах, может быть связан с окислением фенольных соединений в эксплантах, что ведет к прекращению роста и развития, дегенерации и некрозу культивируемых тканей. Введение в состав среды антиоксидантов может нейтрализовать негативное действие фенолов после введения эксплантов в культуру.

Исследования влияния наночастиц на физиолого-биохимические процессы, определяющие рост и развитие растений вызывают пристальный интерес в последние годы. Известно, что данные о действии наночастиц на растения неоднозначны и иногда противоречивы. Среди других эффектов, они способны оказывать существенное влияние на содержание и синтез биологически активных веществ; уменьшают общее содержание фенолов и снижают каталазную и пероксидазную активности.

В работе анализировали биологические эффекты трёх типов наночастиц (чистый ферригидрит, ферригидрит допированный кобальтом и алюминием) в отношении зародышей сибирских представителей рода *Pinus* (сосна обыкновенная и сосна сибирская) на разных стадиях развития в культуре мегагаметофитов и в культуре изолированных зародышей. Инициацию соматического эмбриогенеза проводили на средах ИВМ и 1/2 LV с разными вариациями концентраций микроэлементов и регуляторов роста 2,4D и 6-БАП: СОЛИ, И5, ИСО. В качестве затвердителя среды добавляли желатин (4 г/л); pH доводили до 5,8. В эксперименте использовали коллоидный раствор наночастиц в 0,02% растворе цитрата или в дистиллированной воде. Наночастицы добавляли с разбавлением 1:1000 и 1:10000.

Как показали исследования, отклик эксплантов выражался в виде экстрезий проэмбриогенной массы в районе микропиле, в виде образования эмбриогенных и/или неэмбриогенных каллусов.

В культуре мегагаметофитов на стадии раннего эмбриогенеза на средах без добавления наночастиц (контроль) у сосны сибирской каллусы не образовывались. У сосны обыкновенной формировался только неэмбриогенный каллус, массы которого представляли собой кластеры бежевого цвета, состоящие из мелких однородных клеток, образующих плотную ткань. У четырех из десяти, участвовавших в опыте генотипов каллусообразование составило 26-50 %, у двух было слабо выражено (1,9-3,3%), у остальных вообще отсутствовало. В присутствии наночастиц чистого ферригидрита отмечено увеличение каллусообразования у сосны обыкновенной в 3 раза. В присутствии ферригидрита допированного алюминием частота каллусогенеза не отличалась от контроля. При добавлении частиц допированных кобальтом каллусогенез не наблюдался. Индукция соматического эмбриогенеза в виде экстрезии проэмбриогенной массы имела место у сосны сибирской и сосны обыкновенной только в контроле с частотой 1,6 и 2,2% соответственно. Эмбриогенные массы состояли из эмбриогенных трубок, эмбриональных инициалей, кластеров проэмбриональных масс ПЕМ I – ПЕМ III; каллусные клетки отсутствовали. При выходе на стабильную пролиферацию в эмбриогенных массах формировались глобулы соматических зародышей.

В культуре изолированных зародышей экспланты инокулировали на разные варианты сред: И5 (контроль), И5 с добавлением наночастиц чистого ферригидрита с разбавлением 1:1000 (вариант 1) и 1:10000 (вариант 2), а также с добавлением наночастиц ферригидрита с цитратом, в качестве стабилизатора, в том же разбавлении (ц 1:1000 – вариант 3, ц 1:10000 – вариант 4). Отклик имел место в виде каллусогенеза в районе переколомна (22-48%), гипокотилей (86-100%) и семядолей (85-93%). При этом формировались эмбриогенные каллусы, в которых эмбриогенные структуры: эмбриогенные трубки, эмбриональные инициали, кластеры проэмбриональных масс ПЕМ I - ПЕМ III и ранние соматические зародыши – располагались на поверхности каллусов, внутреннюю часть которых составляли мелкие однородные клетки, образующие плотную ткань.

Таким образом, впервые проведено исследование влияния наночастиц биогенного ферригидрита железа на инициацию соматического эмбриогенеза у сосны обыкновенной и сосны сибирской в культуре мегагаметофитов и в культуре изолированных зародышей. Установлено, что вид и частота отклика эксплантов зависела от состава среды, вида растения, генотипа дерева, стадии развития зародыша от типа и концентрации наночастиц.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ, Правительства Красноярского края и ККФН в рамках научного проекта № 16-48-242158

## Создание и анализ трансгенных растений с геном стильбенсинтазы

*Алексеева В.В., Рукавцова Е.Б., Тарлачков С.В., Бурьянов Я.И.*

Филиал ФГБУН Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,  
проспект Науки, д. 6, Пушкино, Россия  
[lera@bibch.ru](mailto:lera@bibch.ru)

Целью исследований было получение трансгенных растений табака и томата с геном стильбенсинтазы из винограда. Стильбенсинтаза (STS) является ключевым ферментом биосинтеза различных стильбенов, в том числе резвератрола и его производных. Резвератрол относят к классу фитоалексинов, хотя механизм его защитного действия во многом еще не выяснен. Для клинической практики большое значение имеет широкий спектр биологических функций резвератрола и его низкая токсичность. Так, резвератрол обладает иммуномодулирующим действием, положительно влияет на сердечно-сосудистую и нервную системы человека и проявляет гепатопротекторные свойства. Трансгенные растения с геном STS могут служить источником резвератрола, что перспективно для сельскохозяйственной биотехнологии и фармакологии.

Нами получены и проанализированы растения табака *Nicotiana tabacum* L. с геном стильбенсинтазы винограда *Vitis vinifera* (GenBank AB046375.1). Ген STS из винограда синтезирован с помощью ОТ-ПЦР и встроен в вектор для трансформации растений pSS под контроль сильного конститутивного промотора 35S РНК вируса мозаики цветной капусты CaMV 35SS. Созданными рекомбинантными плазмидами, несущими ген STS, трансформирован штамм агробактерий *Agrobacterium tumefaciens* GV3101. Эти агробактерии использованы для трансформации листовых эксплантов растений табака. В результате дальнейшего анализа среди канамицин-устойчивых регенерантов табака отобрано 7 трансгенных линий. В ДНК этих выбранных линий растений с помощью ПЦР продемонстрировано наличие встроенного гена STS, его регуляторных последовательностей - 35S промотора и терминатора, а также гена устойчивости к канамицину *nptII*. Экспрессия гена STS в трансгенных растениях показана с помощью количественной ОТ-ПЦР в реальном времени. По данным ПЦР в реальном времени уровень экспрессии гена STS был минимален в линии Л24 и максимален в линии Л10, при этом разница в экспрессии между линиями с минимальным и максимальным уровнем составила 11,5 раз. В линии Л7 обнаружено отсутствие экспрессии гена STS. Эти семь линий трансгенных растений табака с геном STS были высажены в закрытый грунт на Станции искусственного климата «Биотрон». Выявлено, что повышенная экспрессия гена STS приводила к уменьшению пигментации венчиков в трансгенных растениях и уменьшению в них количества антоцианов, что может быть результатом конкуренции за субстрат между ферментами стильбенсинтазой и халконсинтазой. У растений табака линии Л10, с наибольшей экспрессией гена STS, бутоны и незрелые цветки имели белую окраску и лишь в процессе созревания цветка приобретали слабо-розовую пигментацию (количество антоцианов составило 40% от уровня антоцианов в венчиках контрольных цветков). Цветки трансгенной линии Л7 с «молчащим» геном STS, не отличались от контрольных. Обнаружено негативное влияние конститутивной экспрессии гена STS на развитие пыльца трансгенных растений (по предварительным данным лишь 30% пыльцевых зерен растений линии Л10 прорастали среде с сахарозой) и в дальнейшем на семенную продуктивность этих растений табака.

Для создания трансгенных растений томата *Lycopersicon esculentum* использовали экспланты молодых проростков сортов Джина и Земляк. Проводится анализ канамицин-устойчивых регенерантов. В исследованиях других авторов ранее показано увеличение уровня антиоксидантов в клетках трансгенного томата с геном STS. Планируется анализ антиоксидантной активности полученных растений, а также эксперименты по определению устойчивости растений к ряду фитопатогенных бактерий и грибов.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований № 16-08-00511.

## Действие кофеина и его природных и синтетических аналогов и антагонистов на объекты животного происхождения

Алексеева О.М.

ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 119334 г. Москва, ул. Косыгина, 4, Россия  
[olgavek@yandex.ru](mailto:olgavek@yandex.ru)

Кофеин (1,3,7-триметил-ксантин) – растительное биологически активное вещество. Биосинтез, катаболизм метилксантинов и распределение по частям растения происходит очень медленно в растения, накапливающих кофеин и его аналоги [Ashihara H. 2011]. В растениях кофеин играет многочисленные роли, укладываемые в две теории «Версия химической защиты», и «Аллелопатия и автотоксическая функция», т.е. влияние на рядом растущие растения путём выделения продуктов жизнедеятельности. Высокие концентрации кофеина в цветковых почках и молодых плодах *C. arabica* и *C. sinensis* защищают молодые мягкие ткани от возбудителей заболеваний и фитофагов. *In vitro* 1%-й раствор кофеина действует как нейротоксин, убивая или отталкивая слизней и улиток ([Hollingsworth., 2002].

В питании человека и животных кофеин играет роль стимулятора умственной и двигательной активности [S. Ataka, 2008, C. F. Haskell 2008] Многие аналоги и антагонисты кофеина, употребляемые с растительной пищей или в терапевтических целях – метилксантины теобромин (3,7 –диметилксантин), теofilлин (1,3 диметилксантин); терпеноид – камфора (1,7,7-триметилбицикло-[2.2.1]-гептан-2-он) также распространены в природе. Они накапливаются в листьях, плодах и зернах кофе, какао, мате, гуаране, коле, в корнях, древесине и побегах камфорного лавра. Аналог камфоры - борнеол (эндо-1,7,7-триметилбицикло-[1,2,2]-гептанол-2) терпеновый спирт) получают из дерева *Dryobalanops camphora*. Также правовращающий борнеол содержится в маслах из лаванды, розмарина, кориандра. Левовращающий борнеол - в эфирном масле пихты сибирской. Используется борнеол для получения камфоры, для парфюмерии и т.п. Пуриновые алкалоиды, синтезируются в таких растениях, как какао, чай, кофе. Основной путь биосинтеза: ксантозин – 7- метилксантозин == 7 метилксантин == теобромин == кофеин. Все реакции очень медленно происходят в растениях. Все выше перечисленные аналоги кофеина – метилксантины и терпеноид, используются в терапевтических целях. По строению и фармакологическим свойствам кофеин близок к теofilлину и теобромину (от латинского названия какао — *Theobroma cacao*) - алкалоидам пуринового ряда. Кофеин действует на ЦНС, а теofilлин и теобромин используют в качестве стимуляторов сердечной деятельности и мочегонных средств. Теобромин применяется для лечения бронхологических заболеваний. Камфора стимулирует дыхательный и сосудодвигательный центры. В терапевтических целях также употребляются синтетические вещества, аналоги кофеина или его антагонисты, подавляющие действие кофеина: 8-метилкофеин, прокаин, тетрокаин, мидокалм, кордиамин. В наших работах [Алексеева О.М. О.М. Alekseevaa 2008, 2009, 2012, 2015] основное внимание было уделено мишеням для кофеина и кофеино-подобных веществ на модели – объекту животного происхождения – саркоплазматическому ретикулуму (СР). В клетках животных кофеин метаболизируется. Известно, что кофеин интеркалирует в ДНК, связывается с адено-рецепторами, инактивирует ферменты и действует на регуляторные центры риаинодиновых рецепторов в клетках разных видов тканей - от нейрональных до мышечных. В настоящей работе было показано его действие на модели СР - кальциевого депо мышечных клеток. Из скелетных мышц (смешанного типа) кролика получали (методом дифференциального центрифугирования) фракции фрагментированного ретикулума (ФСР), происходящие из разных его отделов. Тяжелая фракция содержала в составе мембран риаинодиновые рецепторы (РиР) - кальций освобождающие каналы, активируемые кофеином, кальций связывающие люменальные белки и Са-АТФазу - кальциевый насос, пополняющий запас кальция в депо. Легкая - только Са-АТФазу. Как было выяснено, ФСР, проявили себя, как доступные и стабильные тест-объекты для отбора фармакологически значимых веществ в условиях, приближенных к физиологическим. Были протестированы, как аналоги, так и антагонисты кофеина: теofilлин, теобромин, камфора, бемеград, 8-метилкофеин, прокаин, тетрокаин, мидокалм, кордиамин. При сравнительном анализе строения молекул аналогов кофеина были выявлены действующие группы в сочетании: метильная в 3 положении и карбонильная в 2-м положении [2008]. В присутствии кофеина показано, что вклад пассивной проницаемости мембран в работу ретикулума, как регулятора концентрации кальция внутри мышечной клетки, значительно может изменять активность циклов сокращения – расслабления в обеих фракциях. Спектральными методами по флуоресценции триптофанилов, мероцианина 540 и пирена определена оптимальная величина градиента ионов кальция через мембрану ФСР обеих фракций равная 1мМ. При таком значении градиента кальция СР максимально готов, как к освобождению ионов кальция, так и к последующему поглощению кальция обратно в СР [Vekshina O.M. 2008]. В значительной степени различие в строении мембран ФСР обусловлено распределением белков в мембране в виде мономеров и олигомеров. Это, в свою очередь, определяет функционирование СР. Как было показано с помощью ряда тушителей триптофановой флуоресценции, белок-липидные взаимодействия в разных фракциях обнаруживают большее количество олигомерных белков в тяжелой фракции и меньшее в легкой. Кофеин и его аналоги во всех исследованиях стимулировали РиР.

**Моделирование на разном уровне организации действия биологически активных веществ на биомембраны**

*Алексеева О.М., Шибряева Л.С., Кременцова А.В., Кривандин А.В., Ким Ю.А.\**

Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 119334 г. Москва, ул. Косыгина, 4, Россия,

\*Институт Биофизики клетки РАН, 142290, Пушкино, ул. Научная, 3, Россия

[olgavek@yandex.ru](mailto:olgavek@yandex.ru), [yuk01@rambler.ru](mailto:yuk01@rambler.ru)

Предлагается к рассмотрению ряд данных о влиянии биологически активных веществ (БАВ) на моделях биомембран. Для моделей разного уровня организации были применены соответствующие методы, позволяющие получить адекватные регистрируемые ответы-[Alekseeva O.M., Kremntsova A.V., Kim Yu.A., Krivandin A.V. 2015]. Для решения задачи по выяснению механизма действия БАВ исследовали влияние в широком диапазоне (разведений) концентраций ( $\sim 10^{-3}$ - $10^{-19}$ М), на модели, имитирующие строение биомембран. Меняя температурные режимы, моделировали физиологическое состояние клеток при нагревании-охлаждении, при локальных изменениях температуры в клетке. Использовали 1) БАВ: антиоксиданты – экранированный фенол фенозан и его производные (антиоксиданты гидрофильные и гибридные гидрофобизованные поплавоквого типа); регуляторы роста растений - производные меламина. 2) Методы: ДСК, спектрофотометрия (светорассеяние под прямым углом, триптофановая флуоресценция), ионселективная потенциометрия; малоугловое рентгеновское рассеяние; ЭПР\_спектроскопия 3) Экспериментальные объекты: фосфолипидные липосомы, тени эритроцитов, сывороточный альбумин, клетки асцитной карциномы Эрлиха, лимфоциты, тимоциты, эритроциты.

Под действием производных меламина – гидрофильного мелафена (меламиновая соль бис(оксиметил)фосфиновой кислоты) [Фаттахов С-Г.Г. 2008]. и фенозана – гидрофильного феноксана [ $\beta$ -4-окси-(3,5-дитретбутил-4-оксифенил) калий пропионат], и гидрофобных ИХФАНов (гибридные антиоксиданты, кватернизованные длинноцепочечными, с числом углеродных атомов от 8 до 16, алкилгалогенидами алкил-диметил-[ $\beta$ -(4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилфенил) пропионилэтил] аммоний галогениды) [Nikiforov G.A. 2005] были обнаружены изменения в экспериментальных объектах. Организация фосфолипидных микродоменов в модельных мультиламеллярных фосфолипидных мембранах, сформированных из синтетического насыщенного нейтрального фосфолипида димиристоилфосфатидилхолина (ДМФХ), менялась в зависимости от концентрации БАВ, что было показано с помощью ДСК. Мультиламеллярные липосомы, сформированные из смеси природных фосфолипидов – яичного лецитина, по данным малоуглового дифракционного рентгеновского рассеяния, меняли ширину бислоев и их упорядоченность в многослойных липосомах. Менялась и организация белковых микродоменов в мембранах теней эритроцитов, адекватной модели цитоскелета большинства клеток. Определены действующие концентрации исследуемых БАВ ( $10^{-3}$ - $10^{-5}$  М), приводящие к разрыхлению структуры белков и уничтожению дальнего порядка в модельных фосфолипидных мембранах. Малые концентрации ( $10^{-7}$ - $10^{-9}$ М), напротив, упорядочивают, как структуру фосфолипидных, так и белковых доменов. Исследование роли основных звеньев в механизме действия производных фенозана и меламина на клетки животного происхождения показало их взаимодействие с пуриновыми рецепторами на поверхности клеточных мембран и регуляцию внутриклеточной  $Ca^{2+}$ -сигнализации. Новизна заключается в применении 1) экспериментальных объектов - мембранных моделей: чисто фосфолипидных, природных белок-липидных и клеток; 2) биофизических методов для структурных и функциональных исследований на разной степени организации объектов. Научная значимость – в получении данных о структурном и функциональном действии БАВ. Практическая значимость – в возможности использования объектов, как тест-объектов, подборки методов для характеристики действия БАВ на разных уровнях организации от мембран и их компонентов до клеток.

Таким образом, с помощью представленных выше подходов, методов и экспериментальных объектов возможно проследить взаимосвязь растительного и животного мира, отражающуюся во влиянии БАВ растительного происхождения (или их синтетических аналогов) на объекты животного происхождения.

В настоящее время поставлена задача применения методов, отработанных на моделях животного происхождения, для изучения механизмов действия БАВ на мембраны органелл и целых клеток растительного происхождения.

## Перспективы получения адвентивных корней Вздуплодника сибирского

Алексеева С.И., Ханды М.Т.

Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова, Кулаковского, 46, Якутск, Россия  
[alekseeva.sargy@mail.ru](mailto:alekseeva.sargy@mail.ru)

В связи с увеличивающимся спросом лекарственного растительного сырья, получаемого преимущественно путем сбора дикорастущих растений, перспективным является использование культур клеток и тканей. Данный биотехнологический метод получения растительной биомассы имеет ряд преимуществ, основным из которых является радикальное снятие проблемы его дефицита. Кроме того, становится возможным использование потенциала редких и исчезающих видов растений, при этом получаемое сырье стандартно, полностью свободно от всех видов поллютантов. Все это представляет исследования в области культур клеток и тканей высших растений крайне востребованными и актуальными.

Ценное лекарственное растение из семейства Зонтичных (*Apiaceae*) вздутоплодник сибирский (*Plojodicarpus sibiricus* (Steph.) K.-Pol.). *P. sibiricus* зарегистрирован в Государственном Реестре лекарственных средств РФ в качестве лекарственного растительного сырья. Его корневища и корни обладают сосудорасширяющими, гипотензивными, адренолитическими и спазмолитическими свойствами и служат продуктом для получения препарата «Фловерин». Субстанция фловерин входит в состав общетонизирующего средства растительного происхождения «Сафинор». Ранее из вздутоплодника сибирского получали сосудорасширяющее средство «Димидин». В настоящее время производство названных препаратов приостановлено из-за отсутствия сырья. В свою очередь, вздутоплодник сибирский занесен в Красную книгу Якутии. Заготовка его в природе может привести к уничтожению природных популяций. Лечебное действие вздутоплодника сибирского обусловлено наличием в нем пиранокумаринов дигидросамидина и виснадина. В корнях *P. sibiricus* также найдены изофлоридикарпин, скополетин, умбеллиферон, эфирные масла, гликозиды (мениантин и мелиатин), флавоновые гликозиды (рутин, гиперозид), уксусная и изовалериановая кислота, крахмал. Эфирное масло вздутоплодника сибирского в качестве основных компонентов содержит: лимонен, у-терпинен, терпинолен, спатуленол, гермакрен D, виридифлорол, β-барбатен, 5-кадинен и β-акорадиен. Из литературы также известно, что корни растения вздутоплодника накапливают тяжелые металлы: цинк, никель, селен и молибден, соответственно использование растений, произрастающих на не контролируемых участках, несет большой риск для здоровья человека.

Использование технологии культивирования адвентивных корней полностью исключает наличие поллютантов, поскольку корни культивируются в стерильных и контролируемых условиях. Успешным примером использования технологии адвентивных корней является производство корней женьшеня настоящего *in vitro* корейской компанией CBN Biotech. Данная технология может стать оптимальным биотехнологическим решением производства растительного сырья в условиях современного истощения природных ресурсов.

Для получения адвентивных корней *P. sibiricus* в качестве экспланта использовали стерильные растения *in vitro* выращенные из семян растений, собранных в местности с. Бясь-Кюель Олекминского района РС(Я). Использовали среду MS с добавлением витаминов, сахарозы и агара. Были испытаны 20 вариантов сред, отличающихся по составу регуляторов роста, в качестве которых использовали 2,4-Д, кинетин, БАП в различных соотношениях. Установлено, что адвентивные корни формируются на средах с высоким содержанием цитокининов.

Биотехнологическое выращивание корней вздутоплодника сибирского, вида второй категории редкости, встречающегося в природе лишь изолированными участками, позволит сохранить его популяции от чрезмерной эксплуатации при одновременном обеспечении растущих потребностей в лекарственном сырье.

Работа выполняется при поддержке Гранта Главы Республики Саха (Якутия) для молодых ученых, специалистов и студентов 2017 года.



## **Защитный эффект метилжасмоната на рост и гормональный статус растений пшеницы в условиях засухи**

*Аллагулова Ч.Р., Масленникова Д.Р., Лубянова А.Р., Безрукова М.В., Шакирова Ф.М.*

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН. пр. Октября, 71, Уфа, РБ, Россия  
[shakirova@anrb.ru](mailto:shakirova@anrb.ru)

Жасмонаты, в частности жасмоновая кислота (ЖК) и ее метиловый эфир - метилжасмонат (МеЖ) относятся к эндогенным регуляторам роста растений. Они контролируют развитие пыльцы и растрескивание пыльников, участвуют в регуляции роста корней и созревания плодов. Вместе с тем в литературе накопились сведения, указывающих на вовлечение жасмонатов в регуляцию формирования устойчивости растений к стрессовым факторам биотического и абиотического происхождения. К числу наиболее широко распространенных стрессовых факторов, снижающих рост и продуктивность культурных растений и приводящих к существенной потере их урожайности, относится засуха. Поэтому данная работа была посвящена выявлению защитного эффекта 24-часовой предобработки 100 нМ МеЖ на растения пшеницы в условиях засухи, моделируемой обработкой 4-сут проростков 12%-ным полиэтиленгликолем (ПЭГ). Сама предобработка МеЖ в концентрации 100 нМ оказала стимулирующий эффект на рост растений пшеницы, о чем судили по показателям митотической активности апикальной меристемы корней, а также по сырой и сухой массе проростков. Присутствие ПЭГ в среде инкубирования проростков существенно тормозило их рост. Предобработка МеЖ не предотвратила, но существенно снизила степень негативного действия стресса на рост растений пшеницы. Воздействие стресса в течение 7 часов вызвало сильное нарушение целостности мембранных структур растений пшеницы, на что указывают сведения по существенному увеличению уровня экзоосмоса электролитов из тканей проростков и накоплению в них конечного продукта перекисного окисления липидов мембран - малонового диальдегида (МДА). Данные об уменьшении стресс-индуцированного выхода электролитов и накопления МДА в МеЖ-предобработанных проростках, указывают на вовлечение жасмонатов в регуляцию защиты мембранных клеточных структур от вызываемых дефицитом влаги повреждений. Поскольку в регуляции и координации молекулярно-биологических и физиолого-биохимических процессов, лежащих в основе роста растений, ключевую роль отводят гормональной системе, интересно было исследовать характер влияния предобработки проростков пшеницы МеЖ на гормональный статус в условиях засухи. Количественную оценку свободных фитогормонов проростков пшеницы в одной растительной навеске проводили методом иммуноферментного анализа. Результаты опытов показали, что стресс вызывал существенные перестройки в состоянии гормональной системы проростков, связанные с накоплением АБК и поступательным уменьшением содержания ИУК и цитокининов. Предобработанные МеЖ проростки характеризовались существенно меньшей амплитудой стресс-индуцированных сдвигов содержания АБК и ИУК, в то же время содержание гормонов цитокининовой природы поддерживалось в них на уровне контроля. Поддержание уровня цитокининов в МеЖ-предобработанных проростков в условиях обезвоживания можно рассматривать в качестве важной регуляторной составляющей проявления защитного действия МеЖ. Таким образом, совокупность полученных данных демонстрирует эффективность применения обработки МеЖ в концентрации 100 нМ с целью повышения устойчивости растений пшеницы к дефициту влаги. Важный вклад в реализацию защитного действия МеЖ вносит его способность активно воздействовать на состояние эндогенной гормональной системы проростков, о чем свидетельствуют данные, о снижении в предобработанных МеЖ и подвергнутых обезвоживанию растениях стресс-индуцированного накопления АБК и падения содержания ИУК, а также поддержании концентрации цитокининов в них на уровне контрольных растений.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 17-04-01853.

## **Вклад дегидринов в защитный эффект метилжасмоната на растения пшеницы в условиях засухи**

*Аллагулова Ч.Р., Масленникова Д.Р., Юлдашев Р.А., Шакирова Ф.М.*

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН. пр. Октября, 71, Уфа, РБ, Россия  
[shakirova@anrb.ru](mailto:shakirova@anrb.ru)

Дегидрины принадлежат к обширному семейству LEA-белков (late embryogenesis abundant proteins) – белков позднего эмбриогенеза, которые в процессе онтогенеза накапливаются в созревающих семенах в ходе их естественного обезвоживания. Вместе с тем синтез и накопление дегидринов наблюдается и в тканях вегетирующих растений при неблагоприятных воздействиях, вызывающих нарушение водного режима клетки, в частности при воздействии засухи, которая относится к числу наиболее широко распространенных повреждающих факторов среды, существенно снижающих интенсивность роста и продуктивности растений. Индукция синтеза дегидринов в вегетативных тканях растений также может быть вызвана экзогенной обработкой АБК в нормальных условиях произрастания, 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, например жасмонаты, в частности жасмоновая кислота (ЖК) и ее производное метилжасмонат (МеЖ). Нами получены данные о снижении степени негативного действия засухи, моделируемой обработкой проростков 12 %-ным полиэтиленгликолем (ПЭГ) на рост и гормональный статус МеЖ-предобработанных растений пшеницы. В связи с этим важно было оценить вклад дегидринов в спектр защитного действия МеЖ на растения пшеницы в условиях дефицита влаги. Данная работа была посвящена исследованию влияния 24-часовой обработки 3-суточных проростков метилжасмонатом в концентрации 100 нМ на уровень транскрипционной активности *TADHN*-гена дегидрина и содержание самих белков дегидринов в проростках пшеницы в норме и в условиях засухи, моделируемой 12%-ным ПЭГ. Транскрипционную активность *TADHN* гена дегидрина оценивали с помощью метода ОТ-ПЦР, изменения в уровне дегидриновых белков анализировали методом вестерн-блоттинга с использованием антител, полученных к высококонсервативному К-сегменту дегидринов, любезно предоставленных проф. Т. J. Close (США). Обработка проростков МеЖ вызывала примерно двукратное усиление транскрипционной активности анализируемого гена дегидрина, при этом четко прослеживалась транзиторность ответной реакции, с максимумом, приходящимся на 6 ч обработки. В ходе проведения вестерн-блоттинга иммунопозитивные полипептиды детектировались как в контрольных, так и в опытных образцах, при этом наиболее значимые колебания были выявлены в содержании дегидринов с Мм 28 и 55 кДа. В обработанных МеЖ проростках в нормальных условиях произрастания наблюдалось 1.5-кратное возрастание концентрации обоих дегидринов. Существенное возрастание уровня дегидринов обнаруживалось в проростках при обработке ПЭГ, что вполне естественно, поскольку дефицит влаги индуцирует синтез этих ключевых осмопротектантов. Так, инкубирование растений на среде содержащей 12% ПЭГ, привело более чем к 3-кратному увеличению содержания дегидрина с Мм 28 кДа и более чем 1.5-кратному увеличению дегидрина с Мм 55 кДа. Предобработанные МеЖ и подвергнутые засухе проростки пшеницы характеризовались дополнительным увеличением количества дегидринов, особенно значимое для дегидрина с Мм 28 кДа, содержание которого достигало почти 6-кратного значения от уровня контроля. Таким образом, совокупность полученных в работе результатов может указывать на вовлечение дегидринов в спектр защитного действия МеЖ на растения пшеницы в условиях дефицита влаги.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 17-04-01853.

**Влияние механокомпозита на основе биогенного диоксида кремния и флавоноидов растительного происхождения на адаптационный потенциал *ex vitro* на примере *Fragaria* × *ananassa* Duch.**

**Амброс Е.В., Трофимова Е.Г.\*, Новикова Т.И.**

Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, ул. Золотогорная, 101, Новосибирск, Россия

\*Институт химии твердого тела и механохимии СО РАН, ул. Кутателадзе 18, Новосибирск, Россия

[ambros\\_ev@mail.ru](mailto:ambros_ev@mail.ru)

Образование развитой корневой системы у растений *F. ananassa*, полученных путем микроклонального размножения, относится к основным факторам успешной адаптации регенерантов к нестерильным условиям. Возможность ризогенеза в условиях *ex vitro* позволяет упростить этап укоренения и одновременно получить растения, адаптированные к естественным условиям. В результате сокращается технологический цикл и снижается себестоимость продукции. Одним из способов индукции ризогенеза является обработка основания побега растения высокими дозами регуляторов роста, главным образом, из группы ауксинов (НУК, ИУК и ИМК). В основе лежит теория Christianson, Warnik (1983), согласно которой, под действием экзогенных ауксинов клетки приобретают компетентность в относительно короткий период (5-14 суток) и, далее, образование структур *de novo* может продолжаться независимо от экзогенных регуляторов роста. *В настоящее время практически значимой задачей является поиск соединений, обладающих действием фитогормонов.* Известно, что кремний оказывает существенное влияние на рост и развитие растений, повышает урожайность и улучшает качество продукции, повышает устойчивость растений к различным стрессовым воздействиям. В том числе, отмечено использование соединений кремния для индукции органогенеза *in vitro*, соматического эмбриогенеза, микроразмножения и криоконсервации культур, а также для усиления синтеза вторичных метаболитов. Наиболее перспективно использование препаратов, содержащих биодоступный кремний и антиоксиданты, полученных из растительного сырья с помощью механохимических методов. Механокомпозиты имеют повышенную растворимость, сохраняют близкий к исходному состав и поэтому наиболее эффективно усваиваются растениями. Доказано, что композитные препараты оказывают регулирующее и стимулирующее действие на многие биохимические и физиологические процессы растений, активируют их антиоксидантный комплекс и процессы метаболизма, стимулируют рост и корнеобразование, что позволяет их использовать в технологиях *in vitro*. Цель исследования – оценить возможности ризогенеза и акклиматизации в условиях *ex vitro* у регенерантов *F. × ananassa* «в один шаг» под действием нового регулятора роста – механокомпозита на основе биогенного диоксида кремния и катехинов зеленого чая. В качестве материала для исследований использовали микропобеги двух сортов *F. × ananassa* («Альфа» и «Фестивальная») высотой 2,0–3,0 см, с 2–3 сформированными листьями. Для стимуляции ризогенеза применяли два типа обработки механокомпозитом: опудривание базальных концов микропобегов + полив ¼ МС (20 мл/микропобег) и однократный полив раствором механокомпозита в концентрациях 0,3, 1,0 и 3,0 г/л, растворенного в ¼ МС (20 мл / микропобег). Эти варианты сравнивали с импульсной обработкой микропобегов в растворе 30 мг/л ИУК (в течение 4 часов) + полив ¼ МС (20 мл/микропобег) и контрольной группой, увлажненной раствором ¼ МС (20 мл/микропобег). Процент укоренения *ex vitro* у исследованных сортов в конце периода акклиматизации (30 дней) варьировал от 24,8 до 99,7% в зависимости от типа обработки. Максимальное количество укорененных растений наблюдалось после опудривания микропобегов (до 99,7%), в то время как в вариантах с ИУК, частота ризогенеза достигала 84,6%. Наименьший процент ризогенеза получен в контрольных вариантах (до 45%) и при поливе раствором механокомпозита в концентрациях 1,0 и 3,0 г/л (35 и 50%). Однако применение механокомпозита в концентрации 0,3 г/л эффективно стимулировало ризогенез (до 89,7%). Данная концентрация механокомпозита и опудривание микропобегов обеспечили достоверно значимое увеличение длины корней (в 1,9 - 4,3 раза, соответственно), их количества (в 1,3 - 1,5 раз), сухой массы (в 1,7 – 4 раза) по сравнению с контролем. Увеличение поглотительной поверхности корневой системы, также стимулировало рост надземной части растений, что выражалось в увеличении высоты розетки (в 1,4–1,9 раз), количества листьев (в 1,1–1,3 раз), площади листовой пластинки (в 1,4–2,2 раза) и сухой массы побегов (в 1,8-3,7 раз), в зависимости от генотипа. Полученные данные согласуются с результатами исследований, указывающими, что оптимизация минерального питания повышает эффективность фотосинтеза и активность корневой системы растений. При гистологическом анализе листовой пластинки обнаружено уменьшение толщины мезофилла у регенерантов, обработанных механокомпозитом (до  $88,77 \pm 2,95$  мкм) по сравнению с контрольным вариантом ( $111,51 \pm 3,56$  мкм). Морфометрический анализ данных с помощью сканирующей электронной микроскопии показал, что обработки данным препаратом способствовали увеличению числа устьиц на единицу площади листа, а также уменьшению их линейных размеров. Такие структурные изменения листьев, снижают транспирацию и нормализуют водный режим, а также являются индикаторами успешной акклиматизации растений. Таким образом, полученные результаты позволяют рекомендовать данный ростостимулирующий препарат для использования на этапах укоренения и адаптации микрорастений *F. ananassa* к нестерильным условиям, исключая стадию укоренения регенерантов *in vitro*, что существенно удешевляет и сокращает технологический цикл при получении оздоровленного посадочного материала. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Новосибирской области в рамках научного проекта № 17-44-540339.

## Гормональная регуляция экспрессии генов *rap*- белков *Arabidopsis thaliana*

Андреева А.А., Забродин Д.А., Кудрякова Н.В., Кузнецов В.В.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, ул. Ботаническая 35, Москва, Россия  
[vkusnetsov2001@mail.ru](mailto:vkusnetsov2001@mail.ru)

Известно, что фитогормоны способны регулировать экспрессию генов пластома как на уровне их транскрипции, так и на уровне накопления транскриптов, однако молекулярные механизмы этого процесса остаются неясными. В этой связи особый интерес вызывает роль фитогормонов в регуляции аппарата транскрипции хлоропластов. С развитием протеомики среди компонентов системы пластидной транскрипции были идентифицированы белки, которые наряду с транскрипционными сигма-факторами связываются с РНК-полимеразой бактериального типа (PEP), образуя в ходе развития хлоропластов транскрипционно-активный РНК-полимеразный комплекс. При отсутствии любого из белков останавливается сборка этого комплекса, или он становится крайне нестабильным и разрушается, что приводит к ингибированию транскрипции и остановке превращения этиопластов в хлоропласты. Эти 12 белков были названы PEP-ассоциированными белками (Plastid RNA-associated proteins, PAP). Предполагается, что часть этих белков может участвовать в регуляции транскрипционной активности, другие, возможно, выполняют структурную функцию или участвуют в редокс-зависимой регуляции генов. Нокаутированные мутанты по генам *PAP* имеют бесхлорофильный или бледно-зеленый фенотип с подавлением развития хлоропластов, отсутствием или минимальной PEP активностью и увеличенной NEP активностью. Для изучения влияния индивидуальных фитогормонов на экспрессию генов PAP- белков мы обрабатывали выращенные *in vitro* двухнедельные растения *Arabidopsis thaliana* (экотип Col0) растворами гормонов в течение трех часов и методом ПЦР в режиме реального времени анализировали изменения в накоплении транскриптов PAP генов. Эффективность гормональной обработки подтверждали, измеряя экспрессию генов-маркеров действия гормонов. Экзогенная АБК ( $5 \times 10^{-5}$ М) и метилжасмонат ( $5 \times 10^{-5}$ М) снижали уровни матричной РНК всех 12 генов PAP- белков. Репрессивное действие обоих фитогормонов на гены PAP-белков коррелировало с их ингибиторным эффектом на транскрипцию и накопление транскриптов генов пластома, продемонстрированным ранее на листьях ячменя. Для двух других гормонов цитокинина ( $5 \times 10^{-6}$ М) и брассинолида ( $5 \times 10^{-8}$ М) наблюдалось достоверное увеличение накопления транскриптов части *PAP* генов: *PAP1, 2, 5, 6, 7*, и *12*. Интересно, что практически все эти гены, за исключением *PAP6*, принадлежат к основной функциональной группе PEP комплекса, участвующей в ДНК/РНК метаболизме и регуляции экспрессии генов. Еще четыре гормона ИУК ( $5 \times 10^{-5}$ М) АЦЦ ( $10^{-5}$ М, предшественник этилена), а также салициловая ( $10^{-5}$ М) и гиббереллиновая (ГК<sub>3</sub>,  $10^{-6}$ М) кислоты не оказывали значимого воздействия на экспрессию генов *PAP* в условиях использованной экспериментальной схемы. Выявленная нами гормон-зависимая модуляция экспрессии генов PAP-белков позволяет предполагать, что наряду с транс-факторами семейства SIG и РНК-полимеразами ядерного и пластидного кодирования гены PAP-белков способны участвовать в реализации гормонального сигнала в хлоропластах, регулируя экспрессию пластидного генома.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 14-14-00584).

## Структурно-функциональные особенности талломов *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. разных онтогенетических стадий

Андросова В.И., Чирва О.В.

Петрозаводский государственный университет, ул. Ленина, 33, Петрозаводск, Россия  
[vera.androsova28@gmail.com](mailto:vera.androsova28@gmail.com), [tchirva.olga@yandex.ru](mailto:tchirva.olga@yandex.ru)

Лобария лёгочная (*Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm.) – крупный эпифитный листоватый лишайник, который в настоящее время находится под угрозой исчезновения на большей части территории Европы и внесен в Красные книги многих стран, в том числе и регионов России. Этот хорошо известный вид является популярным модельным объектом экологических исследований широкого спектра направлений во многом благодаря своей чувствительности к условиям местообитания. Цель исследования – выявить структурно-функциональные особенности талломов лишайника *Lobaria pulmonaria* разных онтогенетических состояний в лесных сообществах южной Карелии.

В основу работы легли материалы, собранные в июне 2016 года на территории заповедника «Кивач». Образцы талломов *L. pulmonaria* были собраны с пробных площадей размером 1 га, заложенных Р.В. Игнатенко и В.Н. Тарасовой (2015), на которых были выполнены полные геоботанические описания сообществ. В лаборатории ПетрГУ определение содержания фотосинтетических пигментов проводилось спектрофотометрическим методом с приготовлением спиртовых вытяжек, измерение параметров флуоресценции хлорофилла (Fv/Fm, Y(II), qP, NPQ, ETR) проводилось на компактном портативном импульсном флуориметре (WALZ JUNIOR PAM), анатомические особенности талломов лишайников (общая толщина, толщина корового слоя, толщина альгального слоя, доля альгального слоя, размеры клеток водорослей) анализировались с помощью приготовления срезов (Axio Scope A1). Измерения были выполнены на образцах талломов *L. pulmonaria* всех функционально-возрастных групп, выделенных И.Н. Михайловой (2005), в разных частях таллома (край лопасти, середина, основание) в трехкратной повторности. Анализ полученных данных осуществлялся с использованием однофакторного дисперсионного анализа.

Согласно полученным данным, общая толщина таллома *L. pulmonaria* в изученной выборке варьировала от 80 до 321 мкм. В молодой части таллома (край лопасти) его наименьшая общая толщина наблюдалась у стерильных образцов (80.2±10.9 мкм), наибольшая – у сенильных (178.8±17.8 мкм). В зрелой части (базальной) таллома его наибольшая общая толщина была выявлена у фертильных особей (321.6±31.0 мкм), наименьшая – у стерильных образцов (111.5±2.2 мкм). Толщина верхнего корового слоя в изученной выборке варьировала от 5 до 58 мкм. Наименьшая толщина верхнего корового слоя отмечена для молодых частей стерильных талломов, максимальная – для фертильных, как в молодых, так и в зрелых частях. Толщина альгального слоя в талломах *L. pulmonaria* варьировала от 11 до 45 мкм. Наименьшая толщина фотосинтезирующего слоя наблюдалась у стерильных талломов, наибольшая – у фертильных особей. Доля альгального слоя у талломов разных функционально-возрастных групп варьирует в небольшом пределе от 11 до 19%. Несмотря на закономерный рост общей толщины таллома от стерильной к сенильной группе, доля альгального слоя остается относительно постоянной и достоверно не отличается.

Согласно полученным результатам исследования, общее содержание суммы хлорофиллов *a* и *b* и каротиноидов в талломах *L. pulmonaria* в изученной выборке варьировало от 0.073 до 1.733 и от 0.012 до 0.125 мг/г сух. массы, соответственно. Соотношение содержания хлорофиллов *a* \ *b* изменялось в диапазоне от 0.6 до 2.1, составляя в среднем 1.4, соотношение суммы хлорофиллов к каротиноидам – варьировало от 3.8 до 23.3, составляя в среднем 6.2. Молодые части талломов *L. pulmonaria* ранних онтогенетических стадий характеризуются наибольшим содержанием хлорофиллов в сравнении со зрелыми частями талломов поздних стадий онтогенеза. Низкие значения содержания фотосинтетических пигментов в талломах *L. pulmonaria* вероятно отражают минимально-оптимальный уровень, характерный для этого тенелюбивого вида.

Основные показатели флуоресценции хлорофилла имели самые высокие значения у талломов *L. pulmonaria* фертильной группы и низкие – у стерильной. Выявлены также различия в пределах таллома между молодыми его частями и более зрелыми. Согласно полученным значениям показателей флуоресценции хлорофилла, наименьшая устойчивость функционирования фотосинтетического аппарата отмечена для талломов иматурной стадии развития (стерильных). Несмотря на довольно высокий потенциал, фотохимическая активность этих талломов не реализуется в полной мере, что вероятно связано с высокой чувствительностью фотосинтетического аппарата на этой стадии развития. Схожие данные получены и для молодых участков таллома. Наибольшая устойчивость фотосинтетического аппарата была выявлена у фертильных талломов генеративной стадии онтогенеза.

## Эколого-физиологические основы продукционного процесса различных видов мискантуса (*Miscanthus* spp.)

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

Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, ул. Тимирязевская, 49,  
Москва, Россия  
[alanis152@mail.ru](mailto:alanis152@mail.ru)

Одним из основных вызовов, с которым будет вынуждено столкнуться человечество в XXI веке – это проблема энергообеспечения в условиях возрастающего день ото дня энергопотребления. Интерес к поиску и изучению возобновляемых энергоресурсов во много был обусловлен нестабильной ситуацией на мировом нефтяном рынке в конце XX века. Одним из основных элементов биоэнергетики является производство растительной биомассы в качестве биологически возобновляемого ресурса. Европейскими и американскими исследователями было изучено большое количество видов растений для определения потенциальной возможности их использования в качестве энергетических культур.

Одними из наиболее распространённых и перспективных культур для целей биоэкономики являются растения рода *Miscanthus* семейства *Poaceae*. Это связано с целым рядом причин. Все представители рода – многолетние корневищные травы, способные произрастать на одном месте до 20 лет и более без потери продуктивности [17]. Кроме того, для мискантуса характерен особый - C4 - путь фотосинтеза, который обуславливает высокую продуктивность (до 40 тонн сухого вещества с 1 гектара).

В качестве объектов исследования были взяты растения мискантуса различных видов и гибридных форм: *M. sinensis*, *M. Sacchariflorus*, *M. x giganteus*, *M. x hybrid*. Растения выращивали в условиях многолетнего полевого опыта, заложенного в 2012 году в рамках проекта Европейского Союза FP7-KBBE-2011-5 «Оптимизация производства биомассы мискантуса» на Полевой опытной станции РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева.

На территории средней полосы России потенциальная максимальная продуктивность мискантуса не может быть достигнута. Это связано с целым рядом причин. Во-первых, приход фотосинтетически активной радиации (ФАР) на широте Москвы недостаточен для достижения максимальной эффективности фотосинтеза. Во-вторых, продолжительность вегетационного периода в средней полосе существенно ниже, чем в регионах, наиболее подходящих для возделывания мискантуса (к которым относятся, к примеру, страны Северного и Восточного Средиземноморья), при этом имеют место продолжительные периоды с пониженными температурами. Кроме того, на широте Москвы в отдельные года мискантус может испытывать недостаток влаги в почве (как, например, в достаточно засушливом 2014 году).

От величины прихода ФАР и эффективности её использования зависит потенциальная продуктивность процесса фотосинтеза. Большое количество пасмурных дней в течение периода вегетации мискантуса может снизить и без того невысокий приход ФАР на широте г. Москвы. Для изучения влияния низких показателей освещенности растения выращивали в изолированных камерах по следующей схеме: контроль – достаточная освещенность – ППФ 180 мкмоль/м<sup>2</sup>\*с, низкая освещенность – ППФ 20 мкмоль/м<sup>2</sup>\*с.

Растения, выращенные в условиях достаточного освещения значительно превосходили по высоте, числу листьев и числу побегов растения, которые росли в условиях низкого освещения. Аналогичная ситуация наблюдалась и с точки зрения процессов кушения – низкое освещение подавляет образование новых побегов у мискантуса. В условиях достаточного освещения растения мискантуса китайского переходили к генеративному развитию в среднем на 80 день от начала вегетации. Однако у растения, которые выращивали при низкой освещенности переход к генеративному развитию не был отмечен вовсе. Недостаточная освещенность вызывает следующие реакции у растений мискантуса: Приводят к существенному снижению ростовых показателей, Подавляются процессы кушения, Снижается число листьев, что влечёт за собой снижение продуктивности; подавляется переход к генеративному развитию, снижается интенсивности процессов газообмена.

Засуха вызывала стабильное снижение относительной скорости роста у всех изученных видов и гибридных форм. На ранних стадиях засухи у мискантуса обнаружена способность активно адаптировать процессы метаболизма для максимального снижения действие неблагоприятного фактора. Однако по мере увеличения продолжительности действия условий засухи способность растений к адаптации падает. Условия засухи с самого начала приводили к существенному подавлению процесса видимого фотосинтеза, что может свидетельствовать как о возникновении нарушений в фотосинтетическом аппарате, так и об усилении дыхания под действием засухи. Почвенная засуха вызывает устойчивое снижение степени открытия устьиц у растений, что, по-видимому, является одной из причин параллельного снижения интенсивности процессов фотосинтетического газообмена.

Все изученные виды мискантуса являются короткодневными растениями с количественной фотопериодической реакцией. У растений мискантуса под контролем фотопериодической реакции находится не только переход к генеративному развитию, но и процессы кушения, причём образование новых побегов стимулируется длинным световым днём. Условия длинного дня являются наиболее эффективными с точки зрения накопления биомассы растениями мискантуса, что является преимуществом при продвижении данной культуры в более северные регионы.

**Влияние осенних низких температур на функциональную активность ФС II у *Pinus sylvestris* L. в условиях Центральной Якутии****Антал Т.К., Софронова В.Е.\***

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова. Ленинские горы, 1, Москва, Россия

\*Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН. Проспект Ленина, 41, Якутск, Россия

[taras\\_an@mail.ru](mailto:taras_an@mail.ru)

Известно, что низкие температуры снижают активность фотосинтеза, в первую очередь, реакций цикла Кальвина, индуцируя накопление неиспользованного восстановителя в строме хлоропласта и восстановление переносчиков фотосинтетической ЭТЦ, включая пул пластохинонов (ПХ). Возникающий дисбаланс между световыми реакциями и фотосинтетическим метаболизмом углерода стимулирует генерацию активных форм кислорода (АФК). Окислительный стресс может приводить к деструкции ФСА. В этих условиях возникает необходимость в структурно-функциональной реорганизации световых реакций фотосинтеза, в первую очередь комплексов ФС II. С августа до конца ноября для оценки состояния первичных реакций фотосинтеза в хвое *P. sylvestris* проводили измерения ОЛР кривых, которые анализировали с использованием параметров ЛР теста. Эксперименты охватывали переход в состояние покоя, затем первую (днем около 5-12°C, ночью около 2-6°C) и вторую (от 0 до -10°C) фазы закаливания, а также вынужденный покой в зимние месяцы.

Исследование активности ФС II выявило ее максимальное падение в период с 19 сентября по 6 октября, когда среднесуточная температура постепенно снижалась с +3 до -3°C. Этот период соответствует завершению первой и началу второй фазы закаливания, когда происходил отток свободной воды из клеток в межклетники. В течение этого периода параметр флуоресценции хлорофилла  $F_v/F_m$  снизился с 0.75 до 0.25, что отражает резкое сокращение комплексов ФС II, способных осуществлять фотохимическое преобразование энергии. Снижение фотохимически активных центров ФС II связано, в первую очередь, с ускоренными темпами деградации фотосистемы в результате нарушением ресинтеза D1 белка при этих температурах. При остаточной активности ( $F_v/F_m = 0.25$ ) ФС II полностью теряла способность восстанавливать пул (ПХ), о чем свидетельствуют нулевые значения параметра  $(1-V_j)$ . Это связано, вероятно, с обезвоживанием протопластов, которое сопровождается уменьшением подвижности ПХ в липидном бислое тилакоидных мембран. Более того, реокисление акцепторной стороны ФС II блокировано в результате восстановленного состояния ПХ пула. Долговременное ингибирование реокисления ФС II может приводить к двухэлектронному восстановлению и протонированию  $Q_A$ , и его диссоциации от ФС II. Сохранению определенной доли активности комплексов ФС II при полном блокировании электронного транспорта в ПХ пул могут способствовать механизмы тушения энергии в ФС II.

По окончании второй фазы закаливания в конце второй декады октября при -8...-10°C завершается выход почти всей не связанной воды в межклетники с образованием внеклеточного льда. К этому времени оставшиеся комплексы ФС II полностью теряли остаточную фотохимическую активность в результате разрушения кислород выделяющего комплекса в условиях максимального обезвоживания тилакоидных мембран.

Полученные в работе результаты позволяют сделать вывод о том, что наибольшие изменения ФСА происходили в узком интервале околонулевых температур, свидетельствуя о важной роли редокс состояния и мобильности ПХ в регуляции адаптационных процессов и формировании морозоустойчивости хвои.

## Эффект нитрата аммония в культуре клеток ячменя

Асадова С.Ш.\*\*\*, Гарибов З.А.\*\*

\*Институт Молекулярной Биологии и Биотехнологий Национальной Академии Наук Азербайджана, Проспект Метбуат, 2а, AZ 1073, Баку, Азербайджан.

\*Научно-исследовательский Институт Земледелия Министерства сельского хозяйства Азербайджана, совхоз № 2, AZ 1098, Баку, Азербайджан.  
[biotexnoloqaz@mail.ru](mailto:biotexnoloqaz@mail.ru), [zohrab\\_79@mail.ru](mailto:zohrab_79@mail.ru)

Известно, что в развитии растений и реализации их потенциальной урожайности важную роль играет минеральный состав почв. Одним из основных элементов питания растений является азот, который входит в состав важных биомолекул всех живых организмов. Независимо от содержания минерального азота в почве, скорость его усваивания растениями неодинакова и зависит от многих факторов: стадии развития растения, скорости его роста, генетических особенностей и т.д.

В Азербайджане среди зерновых культур по площади выращивания ячмень занимает второе место. Для повышения урожайности этой культуры в селекционные работы по выявлению хозяйственно-ценных генотипов, устойчивых к стрессовым воздействиям в конкретных почвенно-климатических условиях республики, вовлекаются как местные сорта, так и сортообразцы, полученные из коллекций различных международных центров. Используемый в селекции исходный материал изучается и традиционными методами, и методами культуры клеток. Поскольку в растениях регуляция обмена веществ осуществляется на организменном, тканевом и клеточном уровнях, методами клеточной культуры можно изучать степень влияния элементов минерального питания на всех стадиях развития растений *in vitro*. Проведение экспериментов в условиях искусственного климата на питательных средах различного компонентного состава создает возможность использования разных моделей культивирования.

Ранее, на примере люцерны, нами было показано, что экзогенный нитрат аммония в культуре *in vitro* выполняет не только функцию питания. Изучение эффекта ряда компонентов искусственной питательной среды на процессы каллусо-, эмбриогенеза и выход растений-регенерантов показало различную степень их влияния на все стадии формирования растений *in vitro*. Кроме того, были выявлены взаимодействия между компонентами среды, которые оказывали существенный эффект на ход этих процессов. В частности, нитрат аммония участвовал в активировании эмбриогенеза, вступая в двойные взаимодействия с сахарозой и кинетином.

Учитывая экспериментальные выводы о том, что растения отличаются потребностью в нитрате аммония, для оптимизации и стабильного получения растений-регенерантов ячменя в условиях *in vitro*, необходимо выявить положительное или отрицательное влияние этой формы азота уже на первом этапе культивирования.

Исходя из поставленной цели, в культуру были введены сорта азербайджанской селекции и сортообразец, полученный из Международного центра ICARDA. Из азербайджанских сортов использовались Нахчивандани, Бахарлы, Садлыг, Гарабаг-7, Гарабаг 22, Даянатли, Гудратли-48 и форма Джалала; из ICARDA - сортообразец питомника IBSTrGP - entry 14.

Используемые образцы отличались по количеству рядов, высоте растения, степени адаптивности к почвенно-климатическим условиям и устойчивости к различным заболеваниям.

Для получения каллусной культуры в качестве эксплантов использовались зрелые зерновки всех указанных образцов. В опытные варианты вносились 3 mM и 10 mM  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ . Культивирование осуществлялось в темноте, при температуре 26<sup>0</sup>С.

За исключением сорта Гарабаг 22, для всех остальных сортов каллусогенез был отмечен в обоих вариантах опыта. У сортов Нахчивандани, Даянатли, Гудратли-48 и формы Джалала каллусогенез начинался на 4-5 дней раньше. В обоих вариантах опыта на зерновках сортообразца entry 14 питомника IBSTrGP образовывались отдельные слабо пролиферирующие клетки. Во всех вариантах опыта были отмечены случаи прорастания семян, что создало условия для получения клеточной культуры на этиолированных проростках, не отделенных от зерновки. Прорастание одновременно сопровождалось более интенсивным каллусогенезом, чем на не проросших зерновках. В проведенные ранее на зрелых зародышах и вычлененных этиолированных проростках экспериментах также было отмечено, что этиоляция сама по себе является стимулятором роста каллусной ткани.

В целом, в обоих вариантах опыта эффект нитрата аммония был положительным. Выявлены определенные различия между сортами. Подобная тенденция наблюдалась и в проведенных ранее экспериментах по отбору оптимального экспланта.

Обсуждается степень компетентности эксплантов, культивируемых в условиях различного минерального обеспечения, по частоте образования морфогенного и неморфогенного каллусов.



## **О механизме обеспечения семенной продуктивности колоса злаковых культур**

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

Институт генетики, физиологии и защиты растений АН Молдовы. 2002 МД г. Кишинев, ул. Пэдурилор, д. 20 e-mail: [bn1939@yahoo.com](mailto:bn1939@yahoo.com)

Метаболизм углерода  $C_3$  и  $C_4$  растений – важная составляющая процесса фотосинтеза в обеспечении накопления углеводов и других органических соединений. Особая роль в этих процессах, связанных с формированием семенной продуктивности злаковых растений ( $C_3$  растения) принадлежит колосу, доля которого в формировании семян достигает 40 – 50%, а ассимиляция  $CO_2$  колосом в среднем варьирует между 10 и 76%. И, несмотря на это, механизмы, которые обеспечивают эту важную роль колоса еще не выявлены.

В этом контексте проведены исследования наиболее важных компонент метаболизма углерода колоса, связанного с ассимиляцией  $CO_2$ : кинетика  $CO_2$ -обмена, анатомическая структура фотосинтетического аппарата и ультраструктуры хлоропластов, активность РДФ - карбоксилазы и ФЕП – карбоксилазы, содержание и экспрессия генов ФЕП-карбоксилазы, РДФ – карбоксилазы, глицинкарбоксилазы, гликолатоксидазы, дискриминации изотопов углерода и содержания веществ, ассоциированных с фотодыхательным циклом – гликолат, глицерат, глицин и серин.

Обобщение выявленных особенностей метаболизма углерода в фотосинтетически активных компонентах колоса растений *Tr. durum L.* и *Triticale* в сравнении с флаговым листом этих растений, листом и метелкой кукурузы ( $C_4$  растения) позволяют констатировать, что в колосе наряду с  $C_3$  типом фотосинтеза одновременно присутствуют и достаточно активны структурные и функциональные элементы  $C_4$  типа фотосинтеза, которые, по-видимому, обеспечивают рефиксацию  $CO_2$ , выделенного в процессе фотодыхания. Доказательством этого являются, с одной стороны – отсутствие видимого фотодыхания, с другой – присутствие активного фотодыхательного цикла.

Этот возможный «кооперативный» механизм, в котором комбинируются структурные и функциональные элементы  $C_3$  и  $C_4$  типов фотосинтеза различных уровней экспрессии и интенсивности отсылают колос в зону фотосинтетической активности промежуточного типа аналогичного промежуточным  $C_3$  -  $C_4$  растениям. А отсутствие видимого фотодыхания и одновременное присутствие в колосе активного фотодыхательного цикла указывает на то, что фотодыхательный цикл может иметь функцию насоса  $CO_2$  для обеспечения насыщения пентозофосфатного цикла, увеличивая таким образом фотосинтетическую эффективность колоса, способствуя формированию полноценного зерна.

## Биотехнологическое обеспечение высокой семенной продуктивности растений Тритикале

*Балаур Н.С., Меренюк Л.Ф., Смеря С.В., Воронцов В.А.*

Институт генетики, физиологии и защиты растений АН Молдовы. 2002 МД г. Кишинев, ул. Пэдурилоар, д. 20 e-mail: [bn1939@yahoo.com](mailto:bn1939@yahoo.com)

Зерновые культуры, в том числе и пшеница являются  $C_3$  растениями, для которых, в отличие от  $C_4$  растений, характерно наличие видимого фотодыхания (послеветовой выброс  $CO_2$ ), процесс, в котором теряется до 50% энергии и органических веществ, синтезированных в процессе фотосинтеза. Существует предположение, что ограничение или «обход» фотодыхания могло бы привести к удвоению уровня продуктивности  $C_3$  растений. Если учесть, что уровень фотодыхания увеличивается при повышении температуры и нехватки воды (засуха), то снижение фотодыхания только на 5% привело бы к повышению урожайности (в денежном выражении) на 540 млн. долларов в год. В этом контексте фотодыхание давно стало мишенью в проблеме повышения продуктивности  $C_3$  растений.

Обсуждаются и разработаны некоторые возможные пути «обхода» и ограничения фотодыхания, практическое применение которых привели к улучшению фотосинтеза, интенсификации процессов накопления биомассы и повышения урожайности  $C_3$  растений. Последние 15 лет особое внимание уделяется стратегии переноса генов синдрома  $C_4$  от  $C_4$  растений к  $C_3$  растениям. На этом пути ожидается новая зеленая революция.

Нами выявлено, что фотосинтетически активные репродуктивные органы  $C_3$  растений, включая и злаки (колос) не регистрируют видимое фотодыхание как и листья кукурузы ( $C_4$  растение). В целом кинетика  $CO_2$  обмена колоса тождественна таковой у листьев и метелки кукурузы. Этот феномен указывает на то, что в колосе присутствуют и функционируют механизмы, которые ограничивают выделение  $CO_2$  в процессе фотодыхания.

Биотехнологическое использование (культура *in vitro*) этого феномена у колоса растений *Triticale* (без генетических модификаций) позволило получить соматоклоны этих растений с увеличенным уровнем фотосинтеза (до 60%), с редуцированным уровнем видимого фотодыхания у листьев (до 74%) по сравнению со стандартом и со значительно увеличенным уровнем семенной продуктивности

## Посекундная реакция газообмена листьев кукурузы и подсолнечника на изменение освещенности и появление в газовой фазе HCl или NH<sub>3</sub>

*Баташева С.Н., Загитов Д.И., Файзуллин Д.А., Зуев Ю.Ф., Чиков В.И.*

ФГУБН Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, а/я 30, 420111 г.Казань, Россия  
[sbatasheva@mail.ru](mailto:sbatasheva@mail.ru)

На растениях подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) (С-3 растение) и кукурузы (*Zea mays* L.) (С-4 растение) проведена одновременная регистрация изменений CO<sub>2</sub>-газообмена и транспирации с разрешением в 7 секунд в ответ на изменение освещенности или состава газовой среды. Исследования проводили на инфракрасном спектрометре IR-Affinity (Shimadzu) со специально изготовленной кюветой, который позволял регистрировать изменение концентрации CO<sub>2</sub> и паров H<sub>2</sub>O в воздухе, прошедшем через листовую камеру, по площади полос поглощения в диапазоне от 2200 см<sup>-1</sup> до 2400 см<sup>-1</sup>(CO<sub>2</sub>) или от 3500см<sup>-1</sup> до 4000см<sup>-1</sup> (H<sub>2</sub>O) при спектральном разрешении 4.0 см<sup>-1</sup>. Перед началом экспериментов корпус ИК спектрометра и измерительная кювета продувались газообразным азотом. Для обеспечения неизменности состава воздуха, который продувался через листовую камеру, использовался газгольдер из полиэтиленовой пленки объемом ≈150л.

Растения выращивались в пластиковых контейнерах емкостью 0,5 кг темно-серой лесной почвы до фазы настоящих листьев при искусственном освещении (люминесцентные лампы – освещенность 10 клк). Освещение во время эксперимента производилось с помощью осветителя ЛЭТИ-60 (макс. освещенность – 100 клк). Снижение освещенности в два раза достигалось путем увеличения расстояния от осветителя до листовой камеры.

Результаты показали, что с помощью принятой методики оценки газообмена листа регистрировалась в целом обычная реакция фотосинтеза и транспирации на помещение листа в листовую камеру, включение освещения, его снижение и выключение. Во всех исследованных случаях реакция фотосинтеза на любые изменения освещенности была гораздо более быстрой, чем у транспирации. Это согласуется с многочисленными данными, в которых было показано, что изменение скорости реакций цикла Кальвина происходит за 1-2 минуты, РБФКО изменяет свою активность более медленно (до 10 мин в ответ на включение света и до 30 мин – на выключение), а реакция устьиц может развиваться и более продолжительное время. Различие газообмена у подсолнечника и кукурузы проявилось при измерении интенсивности транспирации после выключения света. У подсолнечника транспирация после короткого и небольшого снижения устанавливалась на достаточно высоком уровне (около 80-90% от светового уровня). У кукурузы же сразу после выключения света транспирация быстро снижалась (практически до 10% от светового уровня). Разная реакция этих двух типов растений на выключение света, выражающаяся, прежде всего, в различном изменении транспирации, может быть связана с разным строением устьиц у злаковых и двудольных растений. Например, согласно литературным данным, устьичная проводимость у растений, обладающих эллиптическими устьицами и устьицами злакового типа, по-разному реагирует на изменение спектрального состава света. Для изменения состава газовой среды в газгольдер вводили 10 мкл водного (25%) аммиака (20 ppm) или 10 мкл концентрированной (38%) соляной кислоты (18,5 ppm). Оказалось, что подсолнечник и кукуруза по-разному реагируют на изменение кислотности внешней газовой среды: листья подсолнечника не продемонстрировали никаких изменений кинетической кривой в ответ на введение аммиака в газовую фазу, но наблюдалась ответная реакция на появление паров соляной кислоты. Растения кукурузы, напротив, реагировали на появление паров аммиака, но не было выявлено почти никаких отличий по газообмену от контроля в присутствии паров соляной кислоты, кроме некоторого снижения скорости фотосинтеза после включения света по сравнению с контролем. В присутствии аммиака у растений кукурузы после включения света скорость фотосинтеза и транспирации нарастала медленнее, чем в контроле, и не наблюдалось типичной реакции со стороны CO<sub>2</sub>-газообмена на снижение освещенности в два раза (уменьшение скорости ассимиляции CO<sub>2</sub>). Растения подсолнечника не показывали типичной реакции газообмена на снижение освещенности в два раза, а также более медленное увеличение фотосинтеза и транспирации в ответ на включение света, но уже в присутствии паров соляной кислоты. Возможным объяснением различной реакции этих двух видов растений на изменение кислотности газовой среды может служить разница в путях ассимиляции CO<sub>2</sub> у С3- и С4-растений. У подсолнечника первичным ферментом ассимиляции CO<sub>2</sub> является РБФКО, которая использует газообразный CO<sub>2</sub>, а подкисление должно усиливать переход CO<sub>2</sub> в газовую фазу. У кукурузы первичный фермент ассимиляции CO<sub>2</sub> – это фосфоенолпируваткарбоксилаза, которая использует гидрокарбонат, а подщелачивание должно усиливать образование гидрокарбоната. Тогда подщелачивание среды у кукурузы и подкисление у подсолнечника должны усиливать ассимиляцию CO<sub>2</sub>, и, возможно, поэтому меняется форма кинетической кривой. В качестве другой причины разной реакции кукурузы и подсолнечника на изменение состава газовой среды можно предположить разный рН апопласта у этих двух видов растений.

**Изменение текучести и проницаемости мембран корней пшеницы в условиях гипотермии***Белкина А.В. \*, Ренкова А.Г., Валитова Ю.Н., Минибаева Ф.В.*

ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, г. Казань, Россия;

\*ФГБОУ ВО Казанский национальный исследовательский технологический университет, г. Казань, Россия  
[yulavalitova@mail.ru](mailto:yulavalitova@mail.ru)

В природе на растения действуют различные неблагоприятные факторы окружающей среды - повышенная температура, засуха, охлаждение, которые вызывают стресс и приводят к различным нарушениям жизнедеятельности растений. При стрессовом воздействии окружающей среды на растение, например, охлаждении (замораживании), его мембраны выступают в роли своеобразной мишени, которые принимают удар на себя, и зачастую, это приводит к их повреждению и нарушению деятельности растительной клетки в целом. Липиды составляют основу мембран, в которых проходят различные биохимические и биофизические процессы. Адаптивные возможности растений в значительной степени зависят от того, насколько они способны сохранять текучесть мембран и предотвращать фазовый переход липидов при низких температурах. Низкие температуры приводят к повышению вязкости липидного бислоя и губительному для клетки переходу мембран из жидкокристаллического состояния в состояние геля. Мембранная текучесть одна из важных биофизических характеристик клеточных мембран. Как правило, для оценки текучести используют флуориметрический метод, с применением флуоресцентного зонда лаурдана. Одним из первых проявлений стресс-индуцированной реакции растений является изменение текучести и проницаемости мембран, и эти изменения часто связывают с изменением содержания стерина. Однако экспериментальных подтверждений этой взаимосвязи в литературе мы не обнаружили. В связи с этим, целью нашей работы является изучение взаимосвязи стресс-индуцированных изменений, происходящих в содержании растительных стерина, проницаемости мембран и их фазового состояния.

В наших экспериментах было показано, что при действии низких положительных температур на корни проростков пшеницы наблюдалось увеличение общего содержания стерина, которое сопровождалось уменьшением проницаемости мембран корней для электролитов. О фазовом состоянии бислоя мембран микросомальной фракции корней судили по величине генерализованной поляризации возбуждения флуоресценции (GPEX) лаурдана. Было показано, что в условиях холодного стресса наблюдается возрастание величины GPEX мембран корней, что может свидетельствовать об увеличении доли твердофазных доменов в липидном бислое микросомальной фракции корней пшеницы при действии холода.

Таким образом, полученные нами результаты свидетельствуют о взаимосвязи стресс-индуцированных изменений в стеринном составе, проницаемости мембран для электролитов и фазовом состоянии мембран. Механизмы взаимосвязи еще предстоит изучить в будущих исследованиях.

## Содержание биологически активных веществ в сырье тимьяна обыкновенного

Белова И.В., Грунина Е.Н.

ФГБУН «Научно исследовательский институт сельского хозяйства Крыма», РФ, Крым, г. Симферополь, ул. Киевская, 150  
[Belova\\_Irina80@mail.ru](mailto:Belova_Irina80@mail.ru)

Тимьян обыкновенный (*Thymus vulgaris* L.) – многолетний травянистый эфиромасличный и лекарственный полукустарник, семейства Lamiaceae. Распространен в северо-западной части Средиземноморья, Испании и на юге Франции, в некоторых регионах России. Растения тимьяна широко применяются в парфюмерии (эфирное масло), пищевой промышленности (пряность) и медицине (лекарственное сырье и эфирное масло). Тимьян обыкновенный – хороший медонос.

Во многих эфиромасличных и лекарственных растениях содержатся биологически активные вещества (БАВ), которые обладают высокой физиологической активностью. Эти вещества входят в состав многих лекарственных препаратов растительного происхождения. В лекарственных растениях определены такие БАВ как алкалоиды, гликозиды, полисахариды, эфирные масла, органические кислоты, антибиотики, кумарины, хиноны, флавоноиды, дубильные вещества и др. Количество биологически активных веществ в растении зависит от его вида, условий произрастания, времени сбора, способа сушки и т.д. Химический состав многих растений изучен недостаточно. Таким растением и является тимьян обыкновенный. Растения тимьяна отличаются высоким содержанием эфирного масла, дубильных веществ, фенолов, терпенов, жирных кислот, а также содержат органические пигменты, минеральные вещества и витамины. Благодаря этому составу лекарственное сырье тимьяна обладает дезинфицирующими и антисептическими свойствами, и бактерицидным действием. Заготовку лекарственного сырья проводят дважды за сезон в фазу массового цветения и за полтора-два месяца до конца вегетации. Срок хранения лекарственного сырья два года, в течение которого сохраняются его полезные свойства. Особую ценность имеет эфирное масло тимьяна (1-2%), которое получают из свежесобранного сырья. Так как в его состав входят такие компоненты как тимол (до 40%), карвакрол (до 20%), п-цимол, борнеол, линалоол и др. В сырье тимьяна также присутствуют тритерпеновая, олеаноловая, кофейная, хинная, хлорогеновая кислоты, смолы, дубильные вещества, флавоноиды "[https://ru.wikipedia.org/wiki/Тимьян\\_обыкновенный](https://ru.wikipedia.org/wiki/Тимьян_обыкновенный)" - cite\_note-2.

В связи с этим целью наших исследований было определения содержания фенольных соединений и дубильных веществ в высушенном сырье тимьяна обыкновенного и их количество в разные сроки хранения сырья. Дополнительно определяли содержание влаги, общей золы и экстрактивных веществ для подтверждения качества высушенного сырья. Материалом для исследований служили два генотипа тимьяна обыкновенного двух вегетативно размножаемых генотипов ИЭЛР и Дагестан. Растительный материал выращивали в полевых условиях, в селекционных питомниках опытных участков отдела селекции и семеноводства ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма», в предгорной зоне Крыма. Исследования по содержанию БАВ и качеству сырья проводили на сырье собранном в фазы начало цветения, массовое и конец цветения в 2015 году. Общее содержание фенольных соединений определяли титриметрическим перманганатным методом в присутствии индигокармина, дубильные вещества дополнительно осаждали с помощью пищевого желатина. Повторность опыта трехкратная.

Установлено, что в растительном высушенном сырье тимьяна обыкновенного до закладки на хранение варьировало от 5,0 до 7,5% (норма не более 13%), содержание общей золы – от 9,60 до 11,97% (при норме не более 12%), а содержание экстрактивных веществ – от 23,02% до 28,07% (при норме более 18%). Максимальное содержание экстрактивных веществ у двух исследуемых генотипов отмечали в период начала цветения. После года хранения растительного сырья тимьяна обыкновенного его качество соответствовало нормам по всем трем показателям (при этом наблюдалось снижение экстрактивных веществ на 6-25% у генотипа Дагестан, и 18-26% у генотипа ИЭЛР).

Установлено, что общее содержание фенольных соединений до закладки на хранение в лекарственном сырье тимьяна обыкновенного варьировало от 5,32% до 9,71% на сухую массу и зависело от генотипа и фазы вегетации растений (у образца Дагестан содержание фенольных соединений было выше во всех трех вариантах опыта растительного материала, чем у генотипа ИЭЛР). После года хранения количество фенольных соединений у генотипа ИЭЛР увеличилось на 30-62% в начале и при массовом цветении, а в конце цветения снижалось на 36%. У генотипа Дагестан снижалось на 7% в начале и при массовом цветении, и увеличивалось на 27% в конце цветения. Это динамика объясняется биологическими процессами происходящими при высушивании сырья. До закладки на хранения содержание дубильных веществ, в зависимости от генотипа варьировало от 0,27% до 5,47% на сухую массу. Максимальное содержание дубильных веществ отмечено в сырье генотипа Дагестан собранном в период начала цветения, а у генотипа ИЭЛР в сырье собранном в конце цветения. В результате исследования изучено содержание фенольных соединений и дубильных веществ у двух генотипов тимьяна обыкновенного в зависимости от срока хранения и установлено, что в растительном сырье генотипа Дагестан содержание фенольных соединений выше, чем в сырье генотипа ИЭЛР.

## Изучение условий культивирования *in vitro* *Lavandula angustifolia* Mill.

Белова М.М., Чердниченко М.Ю.

ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, ул. Тимирязевская, 49, Москва, Россия  
[belova.pavla2015@yandex.ru](mailto:belova.pavla2015@yandex.ru)

Лаванда (*Lavandula* L.) – род растений семейства Яснотковые (Lamiaceae Mart.). Включает 47 видов. Среди них ценные лекарственные растения: *L. angustifolia* Mill., *L. latifolia* Medik., *L. dentata* L., *L. stoechas* L. и др. В промышленном производстве также находятся естественные и искусственные межвидовые гибриды между лавандой узколистной и лавандой широколистной – лаванда гибридная, или лавандин, *L. angustifolia* subsp. *angustifolia* × *L. latifolia*, или сокращенно *L. × intermedia* Emeric ex Loisel. В России и странах СНГ преимущественно возделывается лаванда узколистная.

Лаванда узколистная – вечнозелёный, серебристо-опушенный полукустарник высотой 30-100 см. Имеет приятный сильный пряный запах. Обладает противовоспалительным и спазмолитическим свойствами. Лаванда успешно применяется в медицине, в производстве парфюмерно-косметических изделий, широко используется в кулинарии как пряность. Сорт Munstead – декоративная форма лаванды узколистной с пурпурно-синими цветками.

Полезные свойства лаванды определяются содержанием в ней эфирного масла. Точный состав эфирного масла лаванды варьирует от вида к виду, но состоит в основном из монотерпенов и сесквитерпенов. Из них у лаванды узколистной доминируют линалоол и линалилацетат. Они имеют седативное свойство и применяются как местные анестетики, линалоол также оказывает антибактериальное, противогрибное и инсектицидное воздействие.

Эфирные масла относятся ко вторичным метаболитам. Вторичные метаболиты лаванды могут быть получены с использованием систем *in vitro*, и успех экспериментов, направленных на повышение урожайности или изменение химических профилей, предполагает, что в будущем возможна коммерческая эксплуатация таких растений. Поэтому культивирование *in vitro* является важным подходом для лаванды как способ, который имеет целый ряд преимуществ по сравнению с традиционными методами селекции и совместим с программами улучшения и модификации лаванды.

Наиболее эффективным для решения поставленных задач семеноводства может быть метод клонального микроразмножения на основе культуры изолированных меристем, который обеспечивает генетическую идентичность растений-регенерантов исходным формам и высокие коэффициенты размножения, оздоровление посадочного материала от грибной и бактериальной инфекции. Для получения необходимых продуктов вторичного метаболизма используется каллусная и суспензионная культура (основу которой также составляет каллусная культура).

Нами были изучены различные режимы стерилизации при введении семян *L. angustifolia* Mill. сорта Munstead в культуру *in vitro*, проводилось клональное микроразмножение полученных растений, было изучено влияние гормонального состава (ауксины и/или цитокинины в разных соотношениях) питательной среды Мурасиге и Скуга (МС) на эффективность морфогенеза в культуре изолированных сегментов растительных тканей.

Был сделан вывод, что продолжительность стерилизации 5 %-ным раствором гипохлоритом натрия не оказывает влияние на всхожесть, поэтому в качестве экспозиции можно рекомендовать минимальную продолжительность 5 минут. Для введения в культуру *in vitro* нестерильных проростков *L. angustifolia* оптимальное время стерилизации также составляет 5 мин.

Наибольшая частота корне- и побегообразования при клональном микроразмножении были отмечены на питательной среде МС с добавлением 1 мг/л НУК. В опытах по индукции морфогенеза наибольшая частота корневого органогенеза наблюдалась на питательной среде МС с добавлением 1 мг/л ИУК, каллусогенеза – МС с добавлением 3 мг/л БАП + 0,1 мг/л ИУК.

При культивировании *in vitro* лаванды узколистной мы столкнулись с проблемой витрификации. Это явление возникает из-за одновременного воздействия на растения множества факторов экзогенного характера (например, влажность в культуральном сосуде или гормональный и минеральный состав питательной среды).

Нами были проведены анатомические исследования полученных растений, проведено сравнение по морфологическим и анатомическим признакам между витрифицированными и здоровыми растениями. Было изучено влияние витрификации на количество устьиц и форму трихом, количество хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов.

Нами был сделан вывод, что витрификация растений оказывает значительное влияние на морфологические и биохимические показатели растений. Данное явление способствует снижению газообмена и метаболизма растений. Был сделан предварительный вывод о снижении уровня хлорофиллов у витрифицированных растений и стрессовом ответе на влияющие факторы.

**Особенности газообмена хвои прививок кедра сибирского в связи с возрастом маточных деревьев****Бендер О.Г.**

Институт мониторинга климатических и экологических систем СО РАН, Академический пр-т, 10/3, Томск,  
Россия.  
[obender65@mail.ru](mailto:obender65@mail.ru)

Снижение ростовой активности у старых деревьев отмечено в многочисленных исследовательских работах. Ряд авторов связывают снижение продуктивности старых деревьев с уменьшением фотосинтетической активности листьев. Согласно Hydraulic limitation hypothesis (HLH), падение интенсивности фотосинтеза у старых деревьев связано с их большой высотой, в результате чего значительно возрастает путь воды от корней в верхнюю часть кроны и в кроне наблюдается водный дефицит, который вызывает смыкание устьиц и увеличение сопротивления диффузии CO<sub>2</sub> из атмосферы в межклетники листа.

Другая гипотеза связывает падение активности ростовых и фотосинтетических процессов с возрастом деревьев. Согласно ей, снижение интенсивности роста у старых деревьев вызвано уменьшением активности деления и растяжения меристематических клеток, которое обусловлено экспрессией определенных генов. Снижение ростовой активности уменьшает запрос органов на поступление ассимилятов, снижается напряженность донорно-акцепторных взаимосвязей, в результате снижается интенсивность фотосинтеза.

Проверка обеих гипотез путем прививки черенков с деревьев разного возраста на молодые подвои показала как зависимость интенсивности фотосинтеза от возраста привоя у *Larix laricina* и *Picea rubens*, так и отсутствие влияния возраста привоев на фотосинтетические характеристики у *Pseudotsuga menziesii* и у *Pinus sylvestris*.

Цель настоящего исследования определить: 1) отличалась ли активность физиологических показателей у привоев разного возраста; 2) размер или возраст маточных растений влияли на протекание физиологических процессов.

Объектом исследования служили прививки кедра сибирского, сделанные в 2012 году на 5-ти летнем кедровом подвое. Черенки для прививок были взяты с сенильных деревьев (350-700 лет), генеративных (200-350 лет), иматурных особей (20-60 лет) и сеянцев (3-5 лет). В качестве контроля использовали не привитые деревья. Возраст привитых и не привитых деревьев в 2016 г. составил 10 лет, возраст прививок – 5 лет.

Исследовали интенсивность фотосинтеза, дыхания и транспирации хвои разного возраста прививок кедра сибирского. Для анализа активности физиологических процессов в каждой возрастной группе было отобрано по пять деревьев. Измерения интенсивности газообмена проводили при помощи инфракрасного газоанализатора Li 6400XT (LiCor, США) в августе 2016 г. на 1, 2, 3-летней хвое с 10-00 до 13-00.

Показано, что в трехлетней хвое интенсивности фотосинтеза зависела от возраста маточного дерева. Максимальная скорость поглощения углекислоты отмечена у иматурных прививок (5,5 мг/г ч), на 15, 20, 30, 40% ниже у контроля, ювенильных, генеративных и сенильных прививок, соответственно.

В двухлетней хвое максимальный фотосинтез наблюдался так же у иматурных прививок (5,1 мг/г ч), но диапазон различий между прививками разного возраста значительно уменьшился. Так отличия от иматурного варианта составили 6, 10, 6, 13% у контроля, ювенильных, генеративных и сенильных, соответственно.

В однолетней хвое различия между вариантами не превышали 10% и были недостоверными.

Наиболее выраженные отличия между вариантами прививок по интенсивности дыхания были отмечены в трехлетней хвое. Наблюдалась прямая зависимость между дыханием и возрастом прививок. Минимальные значения дыхания отмечены у ювенильных прививок (0,39 мг/г ч), максимальные у сенильных (0,5 мг/г ч). У однолетней и двухлетней хвои различия выделения углекислоты между возрастными группами были менее выражены и не превышали 8%.

Изменения интенсивности транспирации носили сходный характер с изменением фотосинтеза. Наибольшая амплитуда различий транспирации между вариантами прививок наблюдалась в трехлетней хвое с максимальным значением у иматурных прививок (75,5 мг/г ч). Величина различий испарения воды между прививками разного возраста снижалась в двухлетней и достоверно не отличалась в однолетней хвое.

Таким образом, показано, что интенсивность физиологических процессов зависела от возраста хвои и прививки. Наибольшие отличия по активности газообмена между вариантами отмечены в самой старой хвое привоев. В самой молодой хвое различия нивелировались и становились недостоверными. Наши результаты частично подтвердили вторую гипотезу, что физиологические процессы регулируются через экспрессию генов. Сигналом к включению или отключению генов служит определенный внутренний фактор, влияние которого, по-видимому, со временем ослабевает, поэтому различия между вариантами привоев становятся незначительными.

## Рост корней трансгенных растений табака *Nicotiana tabacum* L. с эстрадиол-индуцибельной экспрессией гена ксилоглюканэндотрансгликозилазы *tXET-B2* томата при действии стрессовых факторов

Бережнева З.А., Михайлова Е.В., Кулуев Б.Р.

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, ул. Проспект Октября, 71, г.Уфа, РБ, РФ  
[berezneva-z@yandex.ru](mailto:berezhneva-z@yandex.ru)

Ферменты группы ксилоглюканэндотрансгликозилаз (*XTHs*) способны разрывать гликозидную связь в остове ксилоглюкана, соединяя фрагменты двух молекул между собой, при этом расщепляется гликозидная связь в молекуле донора, которая соединяется с невозстанавливающим концом молекулы акцептора. Причем этот же фермент может обладать и гидролазной активностью. При таких перестройках микрофибриллы целлюлозы могут «скользить» относительно друг друга, однако при этом общая прочность ксилоглюканового матрикса не снижается. Фермент участвует в процессах удлинения гипокотилей, инициации роста корневых волосков, реструктуризации клеточной стенки. *XTHs* способствуют росту клеток растяжением, разрушая ксилоглюкановые сшивки между микрофибриллами целлюлозы, а затем перестраивая их. Разрушение ксилоглюкановых сшивок между микрофибриллами целлюлозы делает клеточную стенку более рыхлой, в результате чего она растягивается под воздействием входящей в клетку воды.

Несмотря на интенсивные исследования *XTHs*, остается без ответа вопрос о функциональном значении в геномах растений большого количества генов, кодирующих эту группу ферментов. Возможно, каждый из них выполняет какую-то специфичную роль. Действительно, *XTHs* участвуют во многих морфогенетических и деструктивных процессах при росте и развитии растений. Также в литературе имеются сведения об участии *XTHs* в обеспечении устойчивости растений к дефициту влаги, вызванного засухой и засолением.

Широкое распространение в последние годы в генной инженерии растений получили индуцибельные системы экспрессии, которые все чаще используются при создании трансгенных растений вместо конститутивных промоторов. Преимуществом данной группы транскрипционных систем является возможность активации экспрессии трансгена в любой момент вегетационного периода в зависимости от задач эксперимента. Благодаря этому фенотипические проявления конститутивной и индуцибельной экспрессии целевых генов в трансгенных растениях могут существенно отличаться. Однако как будут проявлять себя гены *XTHs* при индуцибельной экспрессии остается пока неизвестным.

Целью нашей работы был анализ роста корней трансгенных растений табака, сверхэкспрессирующих ген ксилоглюканэндотрансгликозилазы *tXET-B2* томата под контролем эстрадиол-индуцибельной системы XVE при действии стрессовых факторов. Объектом исследования служили растения *N. tabacum* дикого типа и трансгенные, сверхэкспрессирующие ген ксилоглюканэндотрансгликозилазы *tXET-B2* томата. Эксперимент над трансгенными растениями проводился по следующей схеме: через 10 дней после посадки на селективной среде МС проростки с одинаковыми размерами корней переносили на вертикально-ориентированные чашки Петри без эстрадиола и с добавлением 10% эстрадиола в среду МС и по прошествии 10 дней определяли прирост корней при норме, при действии 50 мМ и 100 мМ NaCl (засоление) и при +15°C (гипотермия). При нормальных условиях длина корней трансгенных растений без добавления эстрадиола у линий 2, 3, 5, 6, 7 была увеличена по сравнению с диким типом. При добавлении эстрадиола в среду длина корней трансгенных растений линий 3, 7, 8 увеличилась, а у линий 2, 6, 9 была меньше, чем у контрольных растений без добавления эстрадиола.

Так как NaCl содержится в почве, то этот стрессовый фактор оказывает свой отрицательный эффект прежде всего на корни растений. Поэтому представлял также большой интерес изучение роста корней табака при эстрадиол-индуцибельной экспрессии гена *tXET-B2*. При выращивании на среде с 50 мМ NaCl достоверное увеличение длины корней по сравнению с диким типом было выявлено у линий трансгенных растений табака 2, 3, 7, 8, 9. С добавлением эстрадиола в среду (МС+50 мМ NaCl) длина корней трансгенных растений линий 1, 2, 3, 5, 6, 7, 9 увеличивалась, а у линии 8 была меньше чем у контрольных растений без добавления эстрадиола. При действии 100 мМ NaCl более быстрыми, чем у контроля темпами роста корней характеризовались линии 3, 5, 7, 8. При добавлении эстрадиола в среду длина корней трансгенных растений линий 2, 3, 5, 7 увеличилась.

Способность корней расти в условиях гипотермии также является ценным признаком для растений. Нами был проанализирован прирост корней трансгенных растений табака в условиях низких положительных температур (+15°C). При температуре +25°C наиболее существенный рост корней трансгенных растений наблюдался у линий 3, 5, 7, 8. В условиях экзогенной обработки эстрадиолом длина корней трансгенных растений линий 2, 5, 8 увеличилась, а у линии 3 уменьшилась, по сравнению с контрольными растениями не подвергающимся гипотермическому стрессу. Длина корней растений дикого типа при отсутствии и добавлении эстрадиола в среде не менялась.

Таким образом, для изучения роли гена *tXET-B2* в регуляции роста в стрессовых условиях нами были созданы трансгенные растения табака с эстрадиол-индуцибельной экспрессией данного гена. Полученные данные свидетельствуют о том, что индуцибельная экспрессия гена *tXET-B2* в трансгенных растениях табака способствует изменению длины корней как при нормальных условиях, так и при действии засоления и гипотермии, что свидетельствует об участии *XTHs* в адаптации растений к стрессовым условиям.



## Жирно-кислотный состав растений *N.benthamiana* при различной локализации продуктов гена дельта-9-десатуразы

*Берестовой М.А.\*\**, *Павленко О.С.\*\*\**, *Тюрин А.А.\*\*\**, *Кабардаева К.В.\*\*\**, *Сидоров Р.А.\**, *Миронов К.С.\**,  
*Лось Д.А.\**, *Голденкова-Павлова И.В.\*\*\**

\*ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва

\*\*Российский государственный аграрный университет - Московская сельскохозяйственная академия им. К.А. Тимирязева, Москва

Десатуразы — класс ферментов обеспечивающих образование ненасыщенных связей в цепях жирных кислот. В ходе представленной работы изучалась функциональная активность дельта-9-десатуразы в зависимости от её локализации в растительной клетке.

Для этого были сконструированы векторные конструкции, несущие ген десатуразы, слитый с лидерными последовательностями, направляющими целевой полипептид в определённые компартменты клетки. А именно — в хлоропласты, эндоплазматический ретикулум, а также — вариант без лидерного тега, обеспечивающий цитоплазматическую локализацию белка.

Кроме этого, была создана параллельная серия векторов, которые предусматривали слияние десатуразы как с лидером, так и с репортерным белком, для визуализации всего гибридного полипептида в растительной клетке. В качестве репортера использовался зелёный флуоресцентный белок — gfp. Чтобы минимизировать влияние gfp на локализацию всего комплекса, репортерный домен присоединялся с С-конца десатуразы. Первая серия векторов не содержала гена репортера, чтобы должно было бы, на наш взгляд, наиболее реалистично оценить ферментативную активность десатуразы.

На следующем этапе была проведена агроинfiltrация растений *N.benthamiana* штаммами агробактерий, трансформированными описанными выше конструкциями.

Транзientную экспрессию наблюдали на 5-7 сутки после infiltration.

Ткани растений, трансформированных векторами с gfp использовали для получения протопластов, в которых в дальнейшем оценивали локализацию десатуразы при помощи флуоресцентной микроскопии.

Из растений, infiltrationированных векторами без репортерного гена, выделяли жирные кислоты, которые были проанализированы с использованием ВЭЖХ. В качестве контроля использовали неагроинfiltrированные растения.

Результаты микроскопии показали локализацию десатуразы в компартментах, соответствующих лидерным последовательностям.

Впервые показано, что при транзientной экспрессии гена  $\Delta 9$ -десатуразы в двух видах табака *N. excelsior* и *N. benthamiana*, достоверно уменьшается доля пальмитиновой (16:0), стеариновой (18:0) и олеиновой (18:1) жирных кислот (ЖК), а массовая доля пальмитолеиновой (16:1), линолевой (18:2) и  $\alpha$ -линоленовой (18:3) кислот достоверно увеличена у растений, вне зависимости от локализации  $\Delta 9$ -десатуразы – в хлоропластах; в эндоплазматическом ретикулуме и в цитоплазме. Однако, отмечено, что более высокие значения массовой доли этих ЖК характерны для растений, при локализации  $\Delta 9$ -десатуразы в цитоплазме и ЭР, и в меньшей степени – при локализации в хлоропластах. Состав и содержание ЖК оценивали, выделяя их из листовой ткани. Таким образом, компартмент-направленная локализация продуктов гена десатуразы не влияет на степень её активности, что требует дополнительных исследований относительно изменения жирно-кислотного состава непосредственно мембран изучаемых компартментов.

## Участие липоксигеназного каскада в защитных реакциях растений

Бессолицына Е.К., Смирнова Е.О., Фатыхова В.С., Горина С.С., Петрова О.Е., Топоркова Я.Ю.

ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН ул. Лобачевского д.2/31, а/я  
30, г. Казань, Россия  
[bessolicina.elena@mail.ru](mailto:bessolicina.elena@mail.ru)

Липоксигеназный каскад – источник сигнальных соединений, оксипипинов, играющих важную роль в регуляции роста и развития растений, клеточной сигнализации и защиты. Защитные механизмы организмов могут быть конститутивными и/или индуцируемыми, и включать в себя физиологические барьеры и продукцию токсичных соединений. Оксипипины играют основную роль в защите растений, функционируя в качестве сигнальных молекул и/или защитных веществ, таких как антибактериальные и заживляющие агенты. По этой причине знание процессов, которые регулируют биосинтез, локализацию и действие этих биоактивных производных липидов в растительных клетках, является ключевым для понимания биологии этого семейства метаболитов. Зачастую оксипипины, участвующие в защитных механизмах, не синтезируются заранее; их синтез происходит *de novo* в ответ на механические повреждения, инфекции и другие факторы стресса. Главную роль в биосинтезе оксипипинов растений играют цитохромы P450 семейства CYP74: алленоксидсинтазы (АОС), гидропероксидлиазы (ГПЛ), дивинилэфирсинтазы (ДЭС), эпоксиалкогольсинтазы (ЭАС). В данной работе нами изучалось влияние абиотических стрессовых факторов на экспрессию генов ферментов липоксигеназного каскада следующих видов растений: кукурузы обыкновенной (*Zea mays* L.), сои обыкновенной (*Glycine max* L.), льна-долгунца (*Linum usitatissimum* L.) и зеленого мха (*Physcomitrella patens*). Выбор растительных объектов обусловлен интересом к изучению изменения функционирования липоксигеназного каскада у растений, принадлежащих разным таксонам: однодольные (кукуруза), двудольные (лен-долгунец и соя) и мхи (*P. patens*). Липоксигеназный каскад всех трех объектов различается. У льна-долгунца он дополнен ДЭС, у сои – ЭАС. В то же время, липоксигеназный каскад *P. patens* усложнен тем, что в отличие от цветковых растений, у которых субстратами липоксигеназа являются линолевая и  $\alpha$ -линоленовая кислоты (C18); у *P. patens* дополнительным субстратом является арахидоновая кислота (C20). Этим объясняется значительное увеличение количества липоксигеназ у *P. patens*.

По данным литературы, при механическом повреждении происходит высвобождение летучих продуктов ГПЛ пути – альдегидов и спиртов. Кроме механического повреждения, нами было выдвинуто предположение об участии этих ферментов в формировании ответа на окислительный стресс, для индукции которого в среду для выращивания добавляли салициловую кислоту. Изменения в экспрессии генов ферментов CYP74 оценивали по результатам ПЦР в реальном времени.

Для выявления возможных дополнительных индукторов экспрессии генов ферментов CYP74 проводили анализ промоторных областей этих генов и выявили большое количество последовательностей, характерных для генов, экспрессия которых зависит от света. Поэтому в дальнейшем было использовано изменение светового режима в качестве стрессового фактора. Было показано изменение экспрессии отдельных генов липоксигеназного каскада при изменении светового режима. Кроме того, было проверено влияние жасмонатов на экспрессию генов CYP74. Результаты работы вносят вклад в понимание механизмов регуляции метаболических процессов в живых системах в процессе роста и развития, а также в процессе взаимодействия со средой обитания. Показано прямое влияние света на экспрессию генов ферментов CYP74, что, в свою очередь, указывает на возможное участие липоксигеназного каскада, особенно его ГПЛ ветви, в процессах, связанных с фотосинтезом. АОС путь, по-видимому, участвует в формировании общего ответа на стрессовый фактор независимо от его природы. Функционирование ГПЛ ветви различается не только у разных видов растений; отличается динамика экспрессии генов, кодирующих разные изоформы ГПЛ у одного и того же вида растения. По-видимому, это связано со значением образуемых продуктов, которыми могут быть травматин, оксо-кислоты, либо летучие соединения, являющиеся популяционным сигналом об опасности. Полученные результаты указывают на то, что при воздействии абиотических стрессовых факторов у растений разных видов разные ветви липоксигеназного каскада зачастую ведут себя по-разному.

Долгое время считалось, что ферменты CYP74 характерны исключительно для цветковых растений. Однако полученные нами данные указывают на гораздо более древнее происхождение данного семейства, что подтверждают пластидная локализация большинства ферментов CYP74, особенности структуры и каталитического действия этих ферментов по сравнению с остальными цитохромами P450, а также данные филогенетических исследований. Дополнительным доказательством является тот факт, что представители клана CYP74 описаны у широкого ряда организмов, в том числе у животных, растений, грибов, протеобактерий и бурых водорослей. Нами был приблизительно вычислен момент появления данных ферментов в эволюционной истории и собраны доказательства, подтверждающие это предположение. На основании всех полученных данных, в том числе об эволюции ферментов внутри семейства CYP74, нами было сделано общее предположение об изменении роли отдельных ферментов CYP74 в жизнедеятельности растений в ходе эволюции.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 15-04-04108\_а, МК-2873.2017.4.

**Применение метода АСМ для изучения устойчивости растений к стрессовым условиям.*****Бинюков В.И., Жигачева И.В., Миль Е.М., Албантова А.А., Генерозова И.П.\****ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 119334 г. Москва, ул Косыгина,4,Россия,  
[bin707@mail.ru](mailto:bin707@mail.ru)\*ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, 127276 г. Москва, ул Ботаническая, 35,  
Россия  
[igenerozova@mail.ru](mailto:igenerozova@mail.ru)

Большинство экспериментальных исследований с применением атомно-силовой микроскопии (АСМ) носит качественный характер, в то время как метод АСМ позволяет проводить количественную оценку статистическими методами. В нашей работе методом атомно-силой-микроскопии (АСМ) исследовали влияние комбинированного воздействия недостаточного увлажнения, умеренного охлаждения (10-140С) и обработки семян гороха (*Pisum sativum* L) сорт Флора 2 регулятором роста растений мелафеном (меламинавая соль бис(оксиметил)-фосфиновой кислоты) или герматраном (1-(герматран-1-ил)-1-оксиэтиламин) на морфологию митохондрий 6-дневных проростков. При этом разработаны методические подходы метода АСМ для фиксации и количественной оценки размерных параметров растительных митохондрий, выделенных из проростков гороха. Для фиксации измеряемых образцов митохондрий использовали 2% глутаровый альдегид (фиксировали в течении 5 мин или в течении 2х часов). Все процедуры проводили в мокром состоянии на кремниевой подложке или переводили на кремниевую подложку, промывали дистиллированной водой и подсушивали на воздухе. Работу проводили на приборе SOLVER P47 SMENA, на частоте 150 кГц в полуконтактном режиме, с использованием кантилевера NSG 11. Для определения объема и площади параметров имиджа митохондрий проводилась статистическая обработка результатов с помощью программ ImageAnalyzis и Statistica 6. Имиджи митохондрий проростков гороха как при 5 мин., так и при 2х часовой фиксации митохондрий имеют сходный объем и площадь, которую регистрировали на высоте сечения имиджа 30 нм. Обнаружено, что при стрессовом воздействии на проростки в течении 2х суток (комбинированное воздействие дефицита воды и умеренного охлаждения (+ 14<sup>0</sup>) наблюдалось появление одиночных, не делящихся митохондрий большего объема в группе проростков, подвергшихся стрессовому воздействию, по сравнению с контрольной группой. Сопоставляя литературные данные с данными, полученными в нашем эксперименте, можно было предположить, что при комбинированном воздействия недостаточного увлажнения и умеренного охлаждения в клетках проростков гороха, вероятно, происходило увеличение генерации АФК с последующим набуханием митохондрий. Действительно, интенсивность флуоресценции продуктов ПОЛ в мембранах митохондрий этой группы возрастала в 2,5 - 3 раза. Предварительное замачивание семян в 2x10<sup>-12</sup>М растворе регулятора роста растений мелафеном и 10<sup>-8</sup> М растворе герматрана приводила к снижению интенсивности флуоресценции продуктов ПОЛ почти до контрольного уровня. Такая обработка предотвращала изменения морфологии митохондрий. Размеры митохондрий были сопоставимы с контрольными. Можно предположить, что защитный эффект препаратов обусловлен антиоксидантными свойствами. На основании полученных данных можно прийти к заключению, что метод АСМ может быть использован для оценки функционального состояния митохондрий.

## Метаболизм оксипинов при взаимодействии растений лютика едкого (*Ranunculus acris* L.) с бактериями

Блуффард А.С., Ярин А.Ю., Федина Е.О., Четчин И.Р.

Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН. Ул. Лобачевского, 2/31, Казань, Россия  
[chechyotkin@kibb.knc.ru](mailto:chechyotkin@kibb.knc.ru)

Окисление ненасыщенных жирных кислот и их дальнейшие превращения на метаболических путях липоксигеназного каскада ведут к образованию различных биологически активных веществ, получивших групповое название оксипинов. Последние участвуют в регуляции большинства процессов жизнедеятельности у растений, в том числе в механизмах адаптации растений к различным экстремальным факторам, а также в защите против патогенов. Биосинтез многих оксипинов активируется или индуцируется в тканях растений в ответ на действие патогенных бактерий либо выделенных из них факторов авирулентности, в связи с чем эти оксипинов рассматривают как патоген-индуцируемые соединения. Однако биосинтез оксипинов, описанных как патоген-индуцируемые, может гипотетически индуцироваться не только в ответ на взаимодействие с фитопатогенными организмами, но и на взаимодействие с симбионтными или условно-патогенными бактериями, не представляющими угрозы для растений. Исследований метаболизма оксипинов при взаимодействии с такими бактериями до сих пор не проводилось.

В данном исследовании нами были впервые изучены особенности метаболизма оксипинов у растений при взаимодействии с фитопатогенной бактерией *Pectobacterium atrosepticum*, симбионтной бактерией *Azospirillum brasiliense* и условно-патогенной бактерией *Escherichia coli*. В качестве модельной системы исследования был использован лютик едкий – растение, обладающее высокой устойчивостью к бактериозам. В листьях интактных растений оксипинов не были обнаружены, несмотря на присутствие в листьях лютика высокой активности ферментов биосинтеза оксипинов, таких как дивинилэфирсинтаза и алленоксидсинтаза. Инокулирование растений лютика упомянутыми бактериями приводило к быстрому и неспецифичному образованию в листьях пяти молекулярных видов сложных оксипинов. Два из них были идентифицированы на основе данных УФ-спектроскопии и ЖХМС как линолипины С и D – представители группы галактолипидов, содержащих этерифицированные остатки дивинилового эфира ( $\omega 5Z$ )-этероленовой кислоты. Три остальных оксипинов имели максимум поглощения в УФ-области при 267 нм, характерный для ( $\omega 5Z$ )-этероленовой кислоты. Согласно данным ЯМР и ЖХМС, а также ГХМС продуктов перэтерификации (после обработки метилатом натрия) и продуктов гидролиза sn-1 специфичной липазой, эти соединения представляют собой 1-O-(( $\omega 5Z$ )-этероленоил)-2-O-(7,10-гексадекадиеноил)-3-O- $\beta$ -D-галактопиранозил-sn-глицерин, 1-O-(( $\omega 5Z$ )-этероленоил)-2-O-(7,10,13-гексадекатриеноил)-3-O- $\beta$ -D-галактопиранозил-sn-глицерин и 1-O-(( $\omega 5Z$ )-этероленоил)-2-O-(2,3-динор-( $\omega 5Z$ )-этероленоил)-3-O- $\beta$ -D-галактопиранозил-sn-глицерин. Нами предложены тривиальные названия линолипин Е, F и G, соответственно, для этих трех ранее неизвестных оксипинов.

Выявлено, что соотношение индивидуальных молекулярных видов линолипинов в профилях оксипинов из листьев лютика при взаимодействии с исследованными видами бактерий было специфичным и варьировало в зависимости от времени, прошедшего после инокуляции клетками бактерий. Содержание линолипинов в листьях лютика было примерно на одном уровне через 4 часа после инокуляции *A. brasiliense* и падало с увеличением времени после инокуляции. В профиле оксипинов из листьев лютика, полученного через 4 часа после инокуляции *P. atrosepticum*, преобладал линолипин Е, тогда как содержание линолипинов С и D было вдвое ниже, а линолипинов F и G - на порядок меньше (по сравнению с Е). При этом содержание линолипина F заметно повышалось с увеличением времени после инокуляции *P. atrosepticum* и через 3 дня он был основным молекулярным видом в оксипиновом профиле листьев лютика. Кроме того, к 10 часам после инокуляции *P. atrosepticum* наблюдалось 10-кратное увеличение содержания линолипина G, после чего оно устойчиво снижалось. Основными линолипинами в профиле оксипинов из листьев лютика, полученного через 4 часа после инокуляции *E. coli*, были Е, G, С и D, в то время как содержание линолипина F было в 8 раз меньше (по сравнению с Е). С увеличением времени после инокуляции *E. coli* наблюдалась скачкообразная динамика в изменении содержания линолипинов с заметным падением уровня линолипина Е.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 16-04-01553-а.

## Современные подходы выращивания оздоровленных саженцев винограда таджикского сорта

*Бободжанова Х.И.*

Таджикский национальный университет, проспект Рудаки 17, Душанбе, Таджикистан  
[boboiankh\\_7@bk.ru](mailto:boboiankh_7@bk.ru)

Одним из важнейших вопросов экономической политики Таджикистана является развитие сельскохозяйственной отрасли. Виноградарство - одна из ключевых отраслей сельского хозяйства страны. Хорошие погодные условия республики позволяют увеличить площади виноградников за счет саженцев высокоурожайных сортов с использованием новых инновационных технологий, тем самым обеспечивая растущие потребности населения, и часть урожая экспортировать за рубеж. С учетом данных обстоятельств разработана Программа развития садоводства и виноградарства Республики Таджикистан на 2016 - 2020 годы. Это уже третья программа, направленная на развитие отрасли. В соответствии с этим документом требуется возведение в пятилетний период садов и виноградников на площади 46901 гектаров, в том числе и виноградника на площади 5015 га.

Вместе с увеличением площадей под виноградники создаются условия для распространения вредителей и болезней. Этому способствуют климатические условия большинства природно-хозяйственных зон возделывания винограда. По данным Государственной службы защиты растений и химизации сельского хозяйства Министерства сельского хозяйства Республики Таджикистан, в 2015 году, в районах возделывания винограда потери урожая от грибковых болезней достигли 22-27%. Большие потери виноградарству наносят такие болезни как оидиум, пятнистый антракноз, некроз. Серьезную опасность представляет бактериальный рак. Два заболевания винограда - антракноз и оидиум остаются экономически значимыми заболеваниями виноградной лозы. Кроме того, на виноградниках Таджикистана выявлены и идентифицированы такие вирусные заболевания как короткоузлие, жилковая мозаика, скручивание листьев, крапчатость, некроз жилок, энация и инфекционный хлороз. Перечисленные заболевания являются причиной снижения урожайности, ухудшения качества ягод, прироста лозы и долговечности насаждений. Вирусные заболевания в силу хронического характера наносят серьезный экономический ущерб виноградарству. Симптомы вирусных заболеваний, проявившиеся в весенне-раннелетний период, зачастую сохраняются до поздней осени, практически до листопада. Меняется характер и степень проявления этих симптомов.

В связи с восстановлением и дальнейшим развитием отрасли виноградарства в стране, возникла необходимость ускоренного размножения выделенных по хозяйственно-ценным признакам генотипов винограда и закладка суперэлитных маточников. Государственный реестр коммерческих и охраняемых сортов растений, допущенных к использованию на территории Республики Таджикистан включает столовые (12) и технические сорта (12) сорта винограда. Однако разнообразие возделываемых сортов превышает указанные цифры. Потребители, фермерские хозяйства испытывают сложности в приобретении качественного посадочного материала. Ускоренному получению посадочного материала ценных сортов винограда способствует метод клонального микроразмножения *in vitro*. Метод получил широкое распространение благодаря высокому коэффициенту размножения, возможности круглый год выращивать растения в контролируемых условиях, планировать производство и оперативно реагировать на меняющийся спрос рынка. Также, данный метод позволяет производить генетически стабильные растения, что является важным условием сохранения генетической чистоты. Несомненно, что производство такого посадочного материала возможно в условиях специализированных лабораторий, оснащенных соответствующим оборудованием и применением новейших методов биотехнологии. Несмотря на широкое применение данного метода в мире, разработанные технологии не являются универсальными для всех групп сортов и видов растений. Имеющиеся в литературе сведения противоречивы, не выявлены общие закономерности развития близких групп и видов. Кроме того, наблюдается и своя индивидуальность в зависимости от сортовых характеристик растения.

В Таджикистане работы с использованием культуры тканей ведутся в Институте ботаники, физиологии и генетики растений АН РТ, НИИ Биотехнологии Таджикского аграрного университета им.Ш.Шотемур.

Метод культуры изолированных тканей винограда до последнего времени не применялся. Учитывая ситуацию в центре биотехнологии ТНУ начаты исследования по разработке способа получения оздоровленного посадочного материала местных сортов винограда *in vitro* и подборе оптимальных условий их выращивания.

С этой целью сформирована рабочая коллекция, насчитывающая более ста сортообразцов винограда. Проведен анализ на наличие десяти вирусных заболеваний 35 сортов винограда. К данному времени, в культуру *in vitro* введено 58 и на адаптацию к условиям *ex vitro* переведено 36 сортов винограда.

Результаты исследований по оздоровлению и микроразмножению ценных генотипов винограда таджикского сорта внесут вклад в решении задач Целевой Государственной программы развития садоводства и виноградарства, выращивания саженцев плодов и винограда в Республике Таджикистан. Кроме того, позволят создать реальные предпосылки для разработки научно обоснованного планирования производства посадочного материала, в частности, винограда.

## Влияние концентрации ИМК на ризогенез микропобегов винограда

*Бободжанова Х.И., Абдулалишоева С.Ф., Кухарчик Н.В.\**

Таджикский национальный университет, проспект Рудаки 17, Душанбе, Таджикистан,  
[bobojankh\\_7@bk.ru](mailto:bobojankh_7@bk.ru)

\*РУП «Институт плодоводства», Самохваловичи, Беларусь,  
[Kychnataly@rambler.ru](mailto:Kychnataly@rambler.ru)

Успех укоренения зависит от сортовых особенностей и методических элементов культивирования на искусственных средах, в том числе, числа пассажей, концентрации фитогормонов и способов их применения.

В литературе описаны исследования, когда на этапе укоренения микропобеги винограда высотой 10-12 мм с 2-3 узлами высаживали на обедненную питательную среду МС, содержащую половинное количество макро- и микросолей, полный набор витаминов и в качестве ауксина ИУК в различных концентрациях. В результате исследований отмечено, что уровень ризогенеза и биометрические показатели значительно варьировали в зависимости от генотипа и концентрации ИУК в питательной среде. Выявлено, что для исследуемых сортов оптимальная концентрация ИУК в питательной среде составляет 0,5-1,0 мг/л. У всех исследуемых сортов на данных вариантах питательной среды было отмечено интенсивное развитие побегов и боковых корней. Частота ризогенеза была достаточно высокой и варьировала в зависимости от генотипа от 80 до 95 %. Уже на 15 день культивирования отмечалось формирование 1-3 корней длиной 3,8-6,8 мм.

Группой авторов показано, что для стимуляции ризогенеза в жидкую питательную среду добавляются ауксины: β-индолилуксусная кислота или α-нафтилуксусная кислота в концентрации 0,2 мг/л. Для лучшего укоренения авторы рекомендуют брать побеги высотой 2,5-3 см с двумя–тремя хорошо развитыми листочками.

А.А. Батукаев с соавторами исследовали характер действия различных концентраций ИМК на укоренение побегов *in vitro*. Через 15 дней после применения наибольшее число корней образовалось при концентрации ИМК 2,0 мг/л, при концентрации ИМК 5,0 мг/л наблюдалось почернение корней.

В работе Н.П.Дорошенко с соавторами не отмечено существенной разницы при применении ИУК в концентрации 0,1-0,3 мг/л в развитии растений.

Цель настоящего исследования заключалась в изучении влияния различных концентраций ауксина - ИМК на ризогенез винограда в культуре *in vitro*.

Установлена высокая результативность ризогенеза сортов винограда Кишмиш мускатный и Кишмиш Хишрау в культуре *in vitro*. Оптимальные результаты ризогенеза получены на питательных средах без добавления ИМК – 96,7 % и 76,7 % соответственно. Добавление ИМК в концентрации 0,5 – 2,0 мг/л замедляет начало корнеобразования, и снижает количество укорененных растений у обоих сортов.

Показатели длины побега и количества листьев больше зависели от сорта, чем от питательной среды. Сорт Кишмиш мускатный характеризовался более высокими показателями длины побега и количества листьев, максимальные значения этих показателей для сорта отмечены на питательных средах без индуктора ризогенеза. Для сорта Кишмиш Хишрау высокие значения длины побега и количества листьев отмечены на питательных средах без ИМК и с добавлением ИМК в концентрации 2 мг/л.

## NaCl-зависимые преобразования структурной организации корня томата: морфология и цитоскелет

Богоутдинова Л.Р. \*\*\*, Баранова Е.Н. \*, Баранова Г.Б. \*, Лазарева Е.М. \*\*\*\*, Смирнова Е.А. \*\*\*\*, Халилуев М.Р. \*\*\*

\* Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Тимирязевская ул., 42, Москва, Россия;

\*\* Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева, Тимирязевская ул., 49, Москва, Россия;

\*\*\* Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова. Ленинские горы, 1, Москва, Россия  
[bogoutdinova\\_lr@rambler.ru](mailto:bogoutdinova_lr@rambler.ru)

Одним из важнейших абиотических стрессовых факторов, снижающих продуктивность сельскохозяйственных культур, является почвенное засоление, которому подвержено от 20 до 50% всех орошаемых сельскохозяйственных земель. В настоящее время ограничено число исследовательских работ, посвященных изучению структурной организации клеток корня и цитоскелета у растений семейства *Solanaceae* в условиях солевого стресса. Целью данного исследования являлось изучение структуры корня и систем микроотрубочек в клетках корня томата сорта Рекордсмен в условиях хлоридного засоления *in vitro*. Объектом для изучения служили асептические фрагменты надземной части проростков томата сорта Рекордсмен, культивируемые *in vitro* на питательной среде Мурасиге-Скуга для индукции ризогенеза с добавлением различных концентраций хлорида натрия (0, 25, 50, 75, 100, 150, 200 и 250 мМ). Корни фиксировали для изучения влияния засоления на структурную организацию клеток различных тканей методом световой микроскопии, а также проводили мацерирование ферментами на отдельные клетки, в которых анализировали структуру микроотрубочек после иммуноцитохимического окрашивания.

Был проведен морфометрический анализ регенерированных корней в различных условиях засоления. Установлено незначительное снижение частоты регенерации корней (до 93,3%) на питательной среде с добавлением 250 мМ NaCl. Высокие концентрации хлорида натрия (от 150 мМ и выше) приводили к увеличению срока начала органогенеза корней у исследуемого генотипа. Достоверное уменьшение длины корней у проростков томата сорта Рекордсмен наблюдалось при 100 мМ NaCl, а снижение числа корней по сравнению с контролем зафиксировано только при концентрациях 150-250 мМ NaCl. Обнаружена обратная зависимость между сырой биомассой корней и степенью засоления. Снижение сырой биомассы регенерированных корней происходило уже при добавлении в питательную среду минимальных концентраций NaCl, в то время как существенное снижение сухой биомассы корней отмечено при культивировании на среде, содержащей 100 мМ NaCl.

В результате цитологического исследования было выявлено уменьшение площади клеток чехлика при содержании в питательной среде 75, 100 и 150 мМ NaCl. Помимо этого, при воздействии 25, 100, и 150 мМ хлорида натрия отмечена вакуолизация цитоплазмы клеток чехлика и коры, а при действии 75 мМ NaCl - вакуолизация цитоплазмы клеток чехлика. При воздействии 25, 75 и 150 мМ NaCl установлено снижение толщины корней за счёт уменьшения размеров клеток.

В условиях солевого стресса пучки кортикальных микроотрубочек интерфазных клеток корней теряли свою упорядоченность, прореживались и в части клеток располагались под углом к оси деления. Длительное воздействие 25, 50 и 75 мМ NaCl приводило к появлению коротких пучков и скоплений тубулина, а при 150, 200 и 250 мМ NaCl образовывались неоднородные по плотности кортикальные пучки. В митотических клетках корня выявлены нарушения структуры препрофазного кольца, прореживание пучков микроотрубочек веретена деления, нарушение структуры фрагмопласта и процесса цитокинеза.

Таким образом, в ходе исследования были показаны изменения морфометрических показателей и структуры корней, а также особенности систем микроотрубочек томата сорта Рекордсмен при негативном воздействии солевого стресса, вызванного различными концентрациями хлорида натрия в условиях *in vitro*.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 16-34-01331 мол\_а.

## Зависимость уровня вторичных метаболитов в растениях *Lychnis chalconica* L. от экзогенного мелатонина

Бойко Е.В., Видершпан А.Н., Симон Е.В., Плюснин И.Н., Головацкая И.Ф.

Национальный исследовательский Томский государственный университет, пр. Ленина, 36. г. Томск, Россия  
[CaterinaSoloveva@gmail.com](mailto:CaterinaSoloveva@gmail.com)

Процессы жизнедеятельности любого организма строго согласованы между собой по скорости, времени и локализации действия. Согласованность процессов осуществляют внутриклеточные и межклеточные системы регуляции, среди которых, важнейшее значение имеют гормоны. Фитогормоны – биологически активные вещества, образуемые в малых количествах и действующие дистанционно как регуляторы роста и развития. В 1995 году появились данные о присутствии в растениях вещества индольной природы – мелатонина. Мелатонин, является универсальным и необходимым инструментом адаптации организмов к окружающей среде. Отмечено высокое содержание мелатонина в плодах и семенах, тем самым, свидетельствуя о возможной роли в процессах дифференцировки и поддержании покоя. В настоящее время нет данных о возможной роли мелатонина в регуляции вторичного метаболизма растений. Среди вторичных продуктов выделяют флавоноиды благодаря их участию во многих ключевых процессах роста и развития растений. Они принадлежат к классу полифенольных соединений растительного происхождения. Локализуются флавоноиды главным образом в листьях, цветках и плодах, реже в стеблях и подземных органах. Показано что флавоноиды играют важную роль в процессах клеточной сигнализации и сами могут служить в качестве мессенджеров химических сигналов, участвуют в процессах репродукции растений и, в частности, в процессах развития и функционирования пыльцы, накоплении нектара, в созревании плодов и семян. Новые данные позволяют предположить, что флавоноиды могут участвовать в процессах экспрессии генов, изменять активность регуляторных белков и участвовать в регуляции клеточного деления. Однако наиболее заметную роль флавоноиды играют в защите растений от различных неблагоприятных факторов окружающей среды. К ним следует отнести действие ультрафиолета, температурный стресс, повышенные концентрации тяжелых металлов. Флавоноиды играют огромную роль в защите растений от бактериальной, вирусной и грибковой инфекции, от проникновения паразитов и повреждения насекомыми. Одной из наиболее заметных функций флавоноидов является их участие в защите растений от окислительного стресса благодаря выраженной антиоксидантной активности. Так как на сегодняшний день нет данных о связи вторичного метаболизма растений и мелатонина, целью данного исследования стало изучение зависимости уровня флавоноидов в растениях *Lychnis chalconica* L. от экзогенного мелатонина.

Объектом исследований служили растения *Lychnis chalconica* L. Семена или 3-дневные проростки лихниса обрабатывали раствором мелатонина (0,1 пМ и 1 мкМ) в составе жидкой 50%-ной питательной среды Мурасиге-Скуга (МС). Семена обрабатывали в течение 1 часа, 3-дневные проростки – 2-х суток. 7-дневные проростки были высажены в почвенную культуру на субстрат «Наш огород» ПК «Темп-2» (Томск). В качестве контрольных служили семена или проростки, набухающие или культивируемые на среде МС в отсутствие мелатонина. В качестве источников света служили белые люминесцентные лампы «Philips» (Нидерланды), интенсивность светового потока составила 120 мкмоль фотонов /м<sup>2</sup>с. Анализировали листья растений, находящихся на стадии вегетации. В эксперименте анализировали листья нижних (1–3), средних (4–6) и верхних (7–10) ярусов, определяли содержание флавоноидов методом спектрофотометрии, за счет комплексообразования с хлоридом алюминия в пересчете на рутин.

В результате проведенного исследования показали, что содержание флавоноидов в контрольных растениях различалось в зависимости от физиологического состояния листьев. Максимальный уровень отмечен для активно функционирующих листьев средних ярусов, а наименьшее содержание было в молодых активно растущих листьях верхних ярусов. Листья нижних ярусов, находились в фазе старения, об этом можно судить по их положению на побеге и наиболее высокой интенсивности перекисного окисления липидов, по сравнению с листьями других ярусов.

Обработка проростков в течение двух дней гормоном в любой из исследуемых концентраций, повышала содержание флавоноидов в листьях верхних ярусов вегетирующих растений в 3 и 7 раз при низкой и высокой концентрации соответственно.

Обработка в течение 1 часа набухших семян *Lychnis chalconica* мелатонином приводила к изменениям в уровне флавоноидов в листьях вегетирующих растений. При обработке семян мелатонином в концентрации 0,1 пМ количество флавоноидов возрастало в листьях нижнего яруса, в то время как при 1 мкМ данный показатель снижался. Содержание флавоноидов в листьях среднего яруса растений уменьшалось в ответ на обработку мелатонином любой из исследуемых концентраций, наибольший эффект отмечен при концентрации гормона 1 мкМ. Повышение уровня флавоноидов в листьях нижнего яруса в ответ на обработку мелатонином, может свидетельствовать о его возможной роли в замедлении старения листьев.

Таким образом, нами впервые показано влияние мелатонина на уровень вторичных метаболитов (флавоноидов) в листьях разного физиологического состояния у растений *Lychnis chalconica*.



## Влияние фитогормонов на продолжительность жизни медоносных пчел (*Apis mellifera*) и яйценоскость маток пчелиных семей

Бойценюк Л.И., Кондратьев М.Н.\*

Государственный университет по землеустройству. Казакова ул., 15, Москва, Россия;  
[norwich-norfolk@mail.ru](mailto:norwich-norfolk@mail.ru)

\*Российский государственный аграрный университет – Московская сельскохозяйственная академия имени К.А.Тимирязева. Тимирязевская ул., 49, Москва, Россия  
[minikondr39@mail.ru](mailto:minikondr39@mail.ru)

Ключевым этапом в формировании продуктивности пчелиных семей является период весеннего развития. Темпы весеннего развития зависят в первую очередь от яйценоскости маток и продолжительности жизни рабочих пчел. В активный период все основные процессы, протекающие в пчелиной семье, тесно связаны с жизнью растений. Так развитие пчелиных семей, темп яйценоскости маток, восковая и медовая продуктивность тесно связано с медосбором. При его прекращении все вышеупомянутые показатели снижаются. Для нивелирования отрицательных последствий безвзяточного периода традиционно проводят стимулирующие подкормки сахарным сиропом. Однако подкормка сахарным сиропом не всегда является эффективной. На основании анализа данных литературы мы сделали заключение о необходимости введения в раствор сахарозы физиологически активных веществ, содержащихся в пыльце и нектаре, используемых пчелами. В модельных опытах изучалось влияние коммерческих препаратов фитогормонов (цитокинина, эпибрасинолида, гиббереллина, гетероауксина) на продолжительность жизни медоносных пчел в весенне-летний период, для которого характерно обильное поступление пыльцы в пчелиное гнездо, что, в свою очередь, отражается на развитии личинок будущих особей. Средняя продолжительность жизни особей, получавших только сахарный сироп, составила 4,1 суток, тогда как в группах, где взрослые пчелы получали вместе с сиропом фитогормоны продолжительность жизни возрастала, в зависимости от вида фитогормона, на 60-100%. Продолжительность жизни рабочих пчел, получавших цитокинин, возрастала вдвое. Кроме этого, массовый «отход» пчел в группе, получавшей только сахарный сироп, происходил на 2-4 сутки от начала эксперимента, тогда как в группах пчел, получавших фитогормоны, массовой гибели особей не отмечалось, а их «отход» происходил равномерно в ходе эксперимента. Таким образом, под действием фитогормонов жизнеспособность взрослых пчел повышается, что по нашему мнению связано с предотвращением гибели особей, имеющих меньшую массу, чем другие особи этой группы. В другой серии экспериментов, выполненных по аналогичной схеме, массовая гибель взрослых пчел, получавших при подкормке только сахарный сироп, происходила на 8 сутки, тогда как на сахарном сиропе, содержащем цитокинины, этот процесс наблюдался по истечении 24 суток, при внесении брасинолида или гетероауксина – на 20 суток, гиббереллина – на 13 сутки. Следует отметить, что брасинолиды по своему химическому строению весьма близки к стероидным гормонам (экдистероидам) насекомых, накапливающимся в периоды их линьки и метаморфоза и, следовательно, может оказывать влияние на развитие и половое созревание насекомых. Тем не менее, следует отметить, что положительный эффект фитогормонов на продолжительность жизни рабочих пчел в определенной степени зависел и от их концентрации в растворе сахарозы.

Оптимальная концентрация цитокинина составляла  $4,6 \cdot 10^{-4}$  М, эпибрасинолида –  $5,7 \cdot 10^{-7}$  М. В последующих исследованиях на перезимовавших и сформированных из бессотовых пакетов пчелиных семьях было выявлено, что в семьях, получавших эпибрасинолид, яйценоскость маток была на 54%, а получавших цитокинин - на 35% выше, чем в семьях, подкормленных только раствором сахарозы (контроль). В период медосбора в семьях, получавших эпибрасинолид, яйценоскость маток достигала  $2011,9 \pm 57,00$  яиц в сутки ( $p < 0,01$ ). При внесении в питательный раствор цитокинина она составила  $1952,4 \pm 81,24$  яиц в сутки ( $p < 0,05$ ), тогда как в контроле -  $1595,2 \pm 87,68$  яиц в сутки. Высокая динамика яйценоскости маток в семьях, получавших фитогормоны (эпибрасинолид, цитокинин) сохранялась до конца поддерживающего медосбора. Яйценоскость маток в семьях, сформированных из бессотовых пакетов и также получавших поддерживающую подкормку раствором сахарозы с содержащимися в нём фитогормонами, также была существенно выше по сравнению с контролем.

Так, среднесуточная яйценоскость маток в группе, получавшей эпибрасинолид, составила  $571,4 \pm 50,76$  яиц в сутки, цитокинин -  $535,7 \pm 43,29$  яиц в сутки, что соответственно на 49,5% и 40,2% выше, чем в контроле ( $382,1 \pm 45,45$ ). И в период второго медосбора, который проходил с конца июня по середину июля, яйценоскость пчелиных маток продолжала расти. Например, яйценоскость маток в семьях, получавших эпибрасинолид она была на 38,1%, а цитокинин - на 26,9% выше по сравнению с контролем. Как следует из полученных результатов, подкормки сахарным сиропом с добавлением фитогормонов эпибрасинолида и цитокинина, оказывают существенное положительное влияние на яйценоскость маток пчел карпатской породы. Таким образом, фитогормоны, получаемые пчелами с пыльцой и нектаром, играют огромную роль в жизни пчелиных семей, оказывая регуляторное действие на процессы их жизнедеятельности.

**Влияние абиотических факторов на устьичную регуляцию газообмена сосны обыкновенной****Болондинский В.К.**Институт леса КарНЦ РАН, Пушкинская ул., 11, Петрозаводск, Россия  
[bolond@krc.karelia.ru](mailto:bolond@krc.karelia.ru)

Совокупность условий неорганической среды, или абиотические факторы, оказывают большое влияние на газообмен и другие физиологические функции растений. К ним относятся помимо климатических факторов химический состав почвы и воздуха, а также широкий спектр эдафических факторов. В работе проводится сравнение суточной динамики устьичной проводимости хвои сосны обыкновенной, произрастающей в относительно чистых условиях южной Карелии (62°13' с.ш. и 34°10' в.д.) и на территориях с разной степенью загрязнения к западу от Мончегорского комбината «Североникель» (67°56' с. ш. и 32°55' в. д.).

Исследования проводились на 35-45-летних соснах. В Карелии для регистрации CO<sub>2</sub>-газообмена и транспирации побегов использовались стационарные автоматические многоканальные установки. Микрометеорологические исследования проводили по стандартным методикам. Зная температуру хвои, определяемую с помощью медь-константановых термопар, рассчитывалась насыщающая концентрация водяного пара в межклетниках ( $W_i$ ). По относительной влажности и температуре воздуха с помощью психрометрических таблиц определяли насыщающую концентрацию водяного пара в воздухе, входящем в камеру ( $W_a$ ), и дефицит давления водяного пара в воздухе ( $D$ ). Устьичную проводимость листа для паров воды ( $g_{sw}$ ) рассчитывали по формуле  $g_{sw} = E / (W_i - W_a)$ , где  $E$  – транспирация. В Заполярье для измерения параметров газообмена применялась портативная система LI-6200 (фирма LI-COR, США).

Основным загрязнителем воздуха являлся сернистый газ (до 730 т сут.<sup>-1</sup>). Второй сильный загрязнитель – тяжелые металлы. Пробные площади находились в относительно чистой зоне (A<sub>1</sub>) – на базе Хельсинского университета в Вярриэ-гундре в Лапландии (станция SMEAR 1), в зоне слабого воздействия (A<sub>2</sub>) – участок у деревни Уполокша в 50 км к западу от г. Мончегорска, в зоне сильного воздействия (A<sub>3</sub>) и в зоне деградации лесов (A<sub>4</sub>) в 40 и 20 км от источника соответственно.

На участке A<sub>3</sub> и A<sub>4</sub> измерения проводились на деревьях в относительно хорошем состоянии. Однолетняя хвоя на участке A<sub>4</sub> была поражена в большей степени, чем на участке A<sub>3</sub>, что сказалось на максимальных величинах фотосинтеза. Ночное дыхание на участке A<sub>3</sub> и A<sub>4</sub> составляло 0,25 и 0,62 мкмоль м<sup>-2</sup> с<sup>-1</sup> соответственно, в то время как на A<sub>2</sub> оно было меньше 0,1 мкмоль м<sup>-2</sup> с<sup>-1</sup>. Транспирация на участке A<sub>1</sub> ночью практически отсутствовала и  $g_{sw}$  была равна нулю. То же самое мы наблюдали на нашей опытной площадке в Карелии. На участке A<sub>2</sub> наблюдалось загрязнение переднего двора устьиц, у пораженных деревьев на участках A<sub>3</sub>-A<sub>4</sub> были обнаружены целые ряды устьиц с полностью забитыми передними двориками и с твердой коркой на дне дворика. Устьичная проводимость на участке A<sub>3</sub> в ночное время (как в начале июля при незаходящем солнце, так и в первую половину августа) изменялась от 0,005 до 0,012 моль м<sup>-2</sup> с<sup>-1</sup>, а на участке A<sub>4</sub> от 0,011 до 0,016 мкмоль м<sup>-2</sup> с<sup>-1</sup>. Нижняя граница изменения  $g_{sw}$  в ночное время у хвои в относительно хорошем состоянии на участке A<sub>4</sub> более чем в два раза выше чем на участке A<sub>3</sub>. Величины дефицита водяного пара в воздухе в ночное время, как правило, низки и суммарная ночная транспирация не превышала 2-3% от суточных сумм  $E$ .

Еще больше были минимальные величины  $g_{sw}$  у 2- и 3-летней хвои. Последняя особо уязвима даже при слабых атмосферных засухах, продолжительность которых увеличивается в последние десятилетия. 4-летняя хвоя в зоне A<sub>4</sub> встречается крайне редко, а в зоне A<sub>3</sub> практически отсутствует 5-летняя хвоя. Из-за устьичного ограничения, а также из-за действия загрязнителей суточная продуктивность фотосинтеза на участках A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub> и A<sub>4</sub> составила соответственно 116, 40,6 и 32,5 мкмоль·м<sup>-2</sup>·сутки<sup>-1</sup>. Значительное влияние оказывали тяжелые металлы, способствующие угнетению фотосинтеза, усилению дыхания, торможению оттока метаболитов. Суточная динамика  $g_{sw}$  и  $E$  на загрязненных участках близка к тому, что мы наблюдали на контрольном участке, но по мере приближения к источнику загрязнения снижались как средние, так и максимальные величины этих параметров.

При достаточном количестве влаги в почве на контрольном участке величина эффективности использования воды ( $WUE$ ) после достижения высоких величин в ранние утренние часы уменьшалась до значений  $6 \pm 2$  мкмоль CO<sub>2</sub> м<sup>-2</sup> с<sup>-1</sup>/мкмоль·H<sub>2</sub>O м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup> и оставалась на таком уровне с 10 до 20 часов. В зоне сильного воздействия и зоне деградации  $WUE$  с 12 часов составляла  $1,8 \pm 0,3$  и  $1 \pm 0,2$  мкмоль CO<sub>2</sub>·(мкмоль H<sub>2</sub>O)<sup>-1</sup> соответственно. Лишь до 9 часов  $WUE$  имел значения, сравнимые с контролем. На загрязненных участках на производство единицы сухого вещества тратится в 2,5 раза больше воды, чем на относительно чистых участках. Оценка углеродного баланса у 3- и 4-летних побегов показала, что даже небольшой водный стресс может привести к опадению хвои.

Наблюдаемое последние 20 лет неустойчивое равновесие арктических экосистем в зонах сильного воздействия и деградации лесов, прилегающих к металлургическим предприятиям, может быть в будущем нарушено в связи с глобальным потеплением, что приведет к массовой гибели древесной растительности.

Работа выполнена в рамках государственного задания ИЛ КарНЦ РАН (проект № 0220-2014-0010) и при частичной финансовой поддержке РФФИ (грант 17-04-01087-а).

## **Влияние биопрепарата на основе метаболитов гриба рода *Trichoderma* на устойчивость к биотическим факторам и продуктивность гороха и пшеницы**

*Бородин Д.Б.*

ФГБОУ ВО «Орловский государственный аграрный университет им. Н.В. Парахина»  
[bioogau@mail.ru](mailto:bioogau@mail.ru)

Необходимость в разработке биологических средств защиты растений нового поколения во многом определяют кардинальные перемены, которые произошли в растениеводстве за последнее десятилетие, а это – появление новых вредителей, быстрая смена сортового состава культур, переход на энергосберегающие и малообъемные технологии, широкое применение насекомых-опылителей, что приводит к необходимости повышения активности известных агентов биометода, расчёт потребности в новых биологических средствах защиты растений.

Успешное развитие сельского хозяйства в условиях импортозамещения и получение экологически безопасной продукции напрямую зависит от темпов создания и внедрения в производство биологических средств защиты растений, обеспечивающих снижение использования химических препаратов и получение высоких урожаев.

В ФГБОУ ВО «Орловский государственный аграрный университет имени Н.В. Парахина» на базе кафедры биотехнологии и центров коллективного пользования «Орловский региональный центр сельскохозяйственной биотехнологии» и «Биотехнология микрклонального размножения картофеля» учеными университета был создан биопрепарат на основе метаболитов гриба рода *Trichoderma*.

Биопрепарат на основе метаболитов гриба рода *Trichoderma* созданный на основе биологически активных веществ и компонентов клеток, обладает защитно-стимулирующим действием, повышает иммунитет, способствует увеличению ростовой активности растений, защите их от болезней и вредителей и в конечном итоге повышению урожайности.

Исследования биопрепарата на основе метаболитов гриба рода *Trichoderma* на устойчивость к биотическим факторам и продуктивность гороха и пшеницы проходили в полевых опытах во ВНИИЗБК Орловская область, Орловский район, пос. Стрелецкое в 2015-2016гг.

Высота гороха «Фараон» при обработке биопрепаратом на основе метаболитов гриба рода *Trichoderma* в фазу бутонизации увеличилась на 18% по отношению к контролю. Зеленая масса при применении биопрепарата на основе метаболитов гриба рода *Trichoderma* увеличилась на 22,7%. На основании проведенных исследований установлено, что обработка семян гороха «Фараон» биопрепаратом сократила интенсивность развития корневых гнилей на 26 и 52% в различные фазы развития, также наблюдалось снижение таких болезней как аскохитоз и ржавчина на 15% и 22%.

В результате применения зафиксировано снижение численности такого фитофага как гороховая тля – на 39,3 % по сравнению с контролем. Анализ поврежденности гороховой плодояркой и зерновкой гороха, выявил эффективность биопрепарата в снижении численности этих фитофагов. Процент повреждения семян плодояркой на данном варианте был наименьшим и составил 49,8 %. Поврежденность гороха зерновкой не превышала 3,7 %.

В варианте с применением биопрепарата на наблюдалось увеличение количества бобов на 23,1 % по сравнению с контролем, количества семян на 17,8 %, веса семян – на 12,8 %, массы 1000 семян – на 9,4 %, урожайность гороха при этом возросла на 23,6 % по отношению к контролю и на 8% выше препарата «Винцит».

Полученные данные позволяют сделать вывод, что биопрепарат на основе метаболитов гриба рода *Trichoderma* влияет на интенсивность обменных процессов в проростках, а также оказывают стимулирующее действие на процесс прорастания семян гороха.

Обработка посевов яровой пшеницы «Дарья» биопрепаратом на основе метаболитов гриба рода *Trichoderma* увеличивает площадь листовой поверхности на 21,7% к уборке, это указывает на более длительную работу фотосинтетического аппарата пшеницы. Препарат, способствуя продлению ассимиляционной деятельности фотосинтетического аппарата у пшеницы, приводит к накоплению биомассы и урожаю зерна.

Полученные данные дают основание полагать, что обработка семян пшеницы биопрепаратом на основе метаболитов гриба рода *Trichoderma* перед посевом яровой пшеницы способствует увеличению ёмкости фотосинтетического аппарата в течение вегетации, что выражается в продлении ассимиляционного процесса, осуществляемого зелеными и желтыми пигментами, в большей степени, чем в контроле.

При обработке посевов пшеницы биопрепаратом происходит так же увеличение массы зерен в колосе, на 8,3% и массы тысячи зерен на 9,25 по сравнению с контролем. Урожайность пшеницы «Дарья» при обработке биопрепаратом увеличилась на 12,3%.

Исследуемый биопрепарат позволяет снизить пестицидную нагрузку, способствуя тем самым удешевить продукцию и повысить урожайность гороха и пшеницы, что особенно актуально в сложившейся обстановке.

Получен значительный экономический эффект при использовании биопрепарата на основе метаболитов гриба рода *Trichoderma*, как препарата широкого спектра действия. Это еще раз доказывает, что использование биопрепаратов выгодно и эффективно.

## Моделирование ресурсосберегающей системы создания и применения биопрепаратов

*Бородин Д.Б.*

ФГБОУ ВО «Орловский государственный аграрный университет им. Н.В. Парахина»  
[bioogau@mail.ru](mailto:bioogau@mail.ru)

Ни одно современное сельское хозяйство не обходится без средств защиты растений. Их использование помогает снизить потери от болезней и насекомых-вредителей. В современной России самыми популярными СЗР остаются химические пестициды. Но стоит отметить, что они тормозят рост растений, накапливаются в почве и продуктах, а так же высоки риски выработки резистентности к их действующему веществу. Все эти проблемы могут решить биопестициды.

Использование биопрепаратов в России имеет глубокую историю. Еще в середине 20 века были проведены разработки и началось активное использование микробиологических препаратов. В период перестройки в 90-е годы началось падение государственной поддержки в сельскохозяйственной отрасли и массовый развал системы ее жизнеобеспечения. Как следствие, началось активное завоевание рынка импортными товарами, в том числе химическими средствами защиты, которые вытеснили биологические. Сейчас идет возрождение традиции производства безопасных и экологически чистых продуктов, а это не возможно без использования натуральных средств защиты. Технологии производства и применения таких препаратов разрабатываются в отечественных институтах. Можно с уверенностью говорить, что они гораздо более экологичные и экономически выгодные, чем химические препараты.

В федеральном государственном образовательном учреждении высшего образования «Орловский государственный аграрный университет имени Н.В. Парахина» на базе кафедры биотехнологии и центров коллективного пользования «Орловский региональный центр сельскохозяйственной биотехнологии» и «Биотехнология микроклонального размножения картофеля» учеными университета совместно с учеными ВНИИ Зернобобовых и крупяных культур на протяжении многих лет ведется разработка и испытание новых биологических средств защиты растений на основе природных компонентов клеток и метаболитов микроорганизмов.

Получены пять патентов «Средства для предпосевной обработки семян гороха», созданные на основе веществ и компонентов клеток, обладающих защитно-стимулирующим действием, повышающими иммунитет, способствующими увеличению ростовой активности растений, защите их от болезней и вредителей и в конечном итоге повышению урожайности. Завершены испытания биопрепаратов для борьбы с фитофторозом картофеля, находится в стадии завершения разработка на изобретение средства повышения болезнеустойчивости гороха на основе микроэлементов. Показано, снижение заболеваемости гороха и повышение урожайных показателей под влиянием предлагаемых средств на 15-20 %. Разработано и испытано комплексное средство на основе метаболитов гриба *Trichoderma* для защиты растений закрытого грунта от болезней и вредителей огурцов, томатов, перцев, зеленого лука, петрушки и укропа, позволяющее снизить пестицидную и нитратную нагрузку, способствующую тем самым удешевить продукцию и повысить урожайность культур в условиях защищенного грунта, что особенно актуально в сложившейся обстановке.

Испытанное биологическое средство позволило добиться повышение урожайности по всем культурам до 21%, увеличить густоту стояния пшеницы, гороха, длительность вегетационного периода, а также добиться прироста надземной биомассы. Кроме того, снизилась заболеваемость до 43,2%. Получен значительный экономический эффект при использовании данных препаратов, как препаратов широкого спектра действия. На овощных культурах удалось добиться повышения урожайности и товарности продукции на 17,4%. Это еще раз доказывает, что использование биопрепаратов выгодно и эффективно.

Учеными кафедры биотехнологии и центров коллективного пользования параллельно ведется работа по следующим направлениям: разработка новых биопрепаратов, совершенствование технологии получения и производства биопрепаратов, патентование биопрепаратов, лабораторные исследования, полевые исследования на мелкоделяночных опытах, производственные испытания в крупных агрохолдингах и хозяйствах области и соседних регионов. В процессе исследований даются рекомендации по применению биопрепаратов, по оптимальным концентрациям, срокам и способам обработки, а так же совместно с химическими средствами защиты и микроудобрениями.

Работа в этом направлении продолжается, в рамках исследований по тематике Министерства сельского хозяйства и научных исследований университета и центров коллективного пользования.

**Накопление органических кислот в кресс-салате при ошелачивании и засолении корневой среды***Боталова К.И., Четина О.А., Середа А.М.*

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

[botalova.ksyu@list.ru](mailto:botalova.ksyu@list.ru)

Известно, что гомеостаз  $H^+$  в цитозоле имеет особое значение в функционировании растительной клетки. К изменениям pH среды очень чувствительны фотохимическая активность и вторичные структуры белков. Регуляция pH за счет активности  $H^+$ -АТФаз лежит в основе растяжимости клеточных стенок. Подкисление и подщелачивание внешнего раствора сопровождается некоторой потерей воды корневой системой. Стрессоры разной природы провоцируют нарушение гомеостаза  $H^+$  в цитозоле на фоне сверхпродукции активных форм кислорода.

Существование природных щелочных почв, а также антропогенное изменение реакции почвенной среды определяют актуальность проблемы адаптации растений к pH-уровню корневой среды. Щелочная реакция почвенной среды зачастую сочетается с повышенным содержанием легкорастворимых солей. Ответные специфические и неспецифические реакции растений на отдельное воздействие щелочности и в сочетании с засолением остаются слабоизученными.

Целью наших исследований было изучение изменений общей кислотности и содержания некоторых органических кислот в кресс-салате при отдельной щелочности и комбинированном воздействии щелочности и засоления корневой среды. В современной физиологии растений оценка выраженности этих процессов у растений практически отсутствует. Исследование проведено в модельных опытах с вариантами 6, 7, 8, 9, 10 pH, а также при сочетании этих вариантов с засолением 0,6 % NaCl. Растения выращивали на вермикулите с питательным раствором Кнопа в течение 7 дней, затем в корневую среду добавили соленые растворы с определенной реакцией среды. Содержание кислот в растениях определили через 16 часов после действия стресс-факторов. Общую кислотность водного растительного экстракта определили путем титрования щелочью; содержание щавелевой, лимонной и янтарной кислот – методом ВЭЖХ в трехкратной повторности. Свободные ионы  $Cl^-$  и  $Na^+$  извлекали из растительной массы водной вытяжкой, затем  $Na^+$  определили на пламенном фотометре,  $Cl^-$  –титрованием  $AgNO_3$ . Высоту и массу растений замерили через 2 суток в 25 – кратной повторности. Все полученные данные обработаны с применением корреляционного, регрессионного и дисперсионного анализов.

Общая кислотность растительного экстракта возрастала при ошелачивании корневой среды, на варианте 10 pH – на 40 % по отношению к контролю. Еще в большей степени она повысилась при совместном воздействии щелочности и засоления, например, на варианте 10 pH + 0,6 % NaCl – на 56 %. Ответную реакцию растений подтвердила прямая сильная связь между общей кислотностью (y) и величиной pH воздействующего раствора (x):  $y = 2,21 + 0,49x$ ; коэффициент корреляции  $R = 0,96$ , критерий Фишера  $F = 39,3$ . Накопление кислот в кресс-салате связано и с присутствием хлоридов натрия в корневой среде, т.к. установлена прямая сильная зависимость между общей кислотностью и количеством свободных ионов  $Cl^-$  и  $Na^+$  в листьях ( $R = 0,75-0,77$ ).

Кресс-салат характеризовался наибольшим содержанием щавелевой кислоты – около 60 % от суммы трех кислот, в 2 раза меньше лимонной кислоты и в 7 раз – янтарной. Щелочность и засоление по-разному повлияли на пул органических кислот. Отмечено накопление в растении щавелевой кислоты: на 25% – при влиянии щелочности (10 pH) и на 14% – при совместном воздействии факторов (10pH + 0,6 % NaCl) относительно контроля; ее доля в сумме кислот возросла до 75 %. При этом лимонной кислоты в растениях стало меньше; несколько снизилось и количество янтарной кислоты. Таким образом, стресс-воздействие исследуемых факторов способствовало повышению общей кислотности в кресс-салате, как при отдельном воздействии щелочного фактора, так и в сочетании с засолением. Некоторый вклад в прирост общей кислотности вносит накопление щавелевой кислоты. В научной литературе имеются данные о том, что контролируемая аккумуляция калиевых солей щавелевой кислоты является доминирующим фактором в формировании катион-анионного баланса, задающим осмотический потенциал клеток листа. Органические кислоты могут участвовать в регуляции гомеостаза через pH-чувствительные процессы карбоксилирования и декарбоксилирования кислот. Их повышенное продуцирование в клетке может иметь особое значение в поддержании градиента протонов на плазмолемме. В одной из последних обзорных работ также показано, что метаболизм оксалата связан с циклом превращения аскорбиновой кислоты в монодегидроаскорбиновую кислоту, этот цикл может быть активизирован при стрессе, вызванном воздействием засоления и щелочности.

Через двое суток после стресс-воздействия высота и масса растений зависели от величины щелочности воздействующего раствора ( $R = -0,76-0,81$ ). Связь между общей кислотностью растительного экстракта с высотой и массой растений – обратно пропорциональная и сильная ( $R = -0,77-0,82$ ).

Согласно полученным уравнениям регрессии, на фоне повышения pH от 6 и до 10 масса растений снизилась на 13 %. При сочетании щелочности и засоления NaCl высота и масса снизались на 7-18% по сравнению с отдельным воздействием щелочности.

Таким образом, экспериментальные исследования показали, что ответной реакцией растений на ошелачивание корневой среды являлось повышение общей кислотности растительного экстракта при аккумуляции щавелевой кислоты; в сочетании с засолением изменение этого показателя еще более усиливалось.

## Особенности транслокации $\text{Ca}^{2+}$ , $\text{K}^+$ и $\text{Na}^+$ в ассимилирующих органах хвойных и лиственных пород при агрохимическом способе повышения их устойчивости к солевому стрессу

Будкевич Т.А., Анисова Ж.М., Сак М.М.

Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф.Купревича НАН Беларуси, ул. Академическая, 27, Минск, Беларусь  
[tosik1947@mail.ru](mailto:tosik1947@mail.ru)

Как показали исследования состояния древесных растений в лесных культурах вдоль крупных автомагистралей и придорожных посадках в гг. Минске, Витебске, Гродно, Полоцке, Борисове, Светлогорске (Пугачевский и др., 2006), существенное повреждающее воздействие на растения оказывают вносимые на дорожное полотно в зимний период антифростировочные смеси, вызывающие в придорожных лесных сообществах засоление почвогрунта на расстоянии от 1-5-ти до 10-30 м от полотна дороги (Якушев и др., 2012). В анионном составе загрязняющих среду солевых реагентов доминирует  $\text{Cl}^-$  – 81 %-экв., среди катионов –  $\text{Na}^+$  (64 %-экв.). Коэффициент детерминации между электропроводностью почвенного раствора под деревьями и индексом их состояния составляет ( $R^2=0,43$ ), что указывает на реальный вклад засоления в ослабление состояния древесных насаждений (Кравчук, Рыжиков, 2011).

Анализ результатов научных работ, посвященных негативному воздействию на древесные растения антигололедных реагентов, в которых основным активным компонентом является соль  $\text{NaCl}$ , свидетельствует о том, что внимание исследователей направлено в основном на изучение механизма токсического действия ионов  $\text{Cl}^-$  и поиск способов его ослабления. В то же время меньшее внимание уделяется физиологическому действию ионов  $\text{Na}^+$ , избыток которых в почве может изменять тренды доступности и миграции биогенных элементов –  $\text{K}^+$  и  $\text{Ca}^{2+}$  для корневых систем и вызывать дисбаланс этих элементов относительно ионов натрия в ассимилирующих органах древесных растений – содержание  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Na}^+$  в растительной ткани может возрастать до 3,5-5 раз за счет повышения их концентраций в верхних горизонтах почвы (Шергина, Михайлова, 2007). Негативное действие засоления почв хлоридом натрия на рост и развитие растений может быть обусловлено не только снижением разности осмотических потенциалов и токсичностью ионов  $\text{Na}^+$ , поступающих внутрь клеток, но и деполяризацией плазматической мембраны последних (Балнокин, 2005; Кудряшов и др., 2006). Существующая на плазматической мембране разность электрических потенциалов играет существенную роль в процессах переноса различных веществ внутрь клетки. Изменение концентрации ионов кальция, калия, хлора, натрия в наружном растворе может вызывать как гиперполяризацию, так и деполяризацию плазматической мембраны, что в свою очередь сопровождается усилением или ослаблением транспорта элементов минерального питания внутрь растительных клеток.

Результаты проведенных нами натурных экспериментов при искусственном засолении почвы хлоридом натрия и применении приема агрохимической мелиорации (добавление в ризосферу доломитовой муки - смеси  $\text{CaCO}_3 + \text{MgCO}_3$ ) на 2-летних сеянцах хвойных (*сосне обыкновенной* и *ели европейской*) и лиственных пород (*дубе черешчатом*, *липе мелколистной*, *клене остролистном*), а также на 60-70-летних культурах *ели европейской* выявили видовые особенности накопления  $\text{Na}^+$  в фотосинтезирующих органах растений (хвое и листьях) на фоне высокого уровня засоления почвы и проявившегося под воздействием мелиоранта снижения этого показателя, в разной степени коррелирующего с соотношением  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ , что можно рассматривать как видовую специфику реализации у древесных растений физиологического механизма устойчивости к избытку хлорида натрия в почве. При максимальном уровне засоления почвы в эксперименте (300 г  $\text{NaCl}/\text{м}^2$  площади питания растений) в хвое 1-года жизни *ели европейской* как в зрелых насаждениях, так и в опыте с 2-летними сеянцами влияние мелиоранта выразилось в существенном, 4-12-кратном снижении соотношения  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  за счет 3-14-кратного повышения концентрации  $\text{Ca}^{2+}$ ; при более низком уровне засоления почвы (100 г  $\text{NaCl}/\text{м}^2$ ) концентрация  $\text{Na}^+$  в хвое ели снизилась на 1 порядок на фоне 1,5-кратного увеличения концентрации  $\text{K}^+$  и 6-кратного -  $\text{Ca}^{2+}$ . В хвое *сосны европейской* аналогичный характер изменения ионного баланса  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  под воздействием мелиоранта отмечен только для уровня засоления почвы 100 г  $\text{NaCl}/\text{м}^2$  и не проявлялся при уровне 300 г  $\text{NaCl}/\text{м}^2$ .

Проверка исследуемого метода агрохимической мелиорации на сеянцах лиственных пород показала, что в диапазоне содержания хлорида натрия 100-300 г/м<sup>2</sup> в ризосфере исследуемых культур устойчивость сеянцев, по данным параметров их морфоструктуры и продукционных характеристик, последовательно снижается в ряду: *дуб черешчатый* – *липа мелколистная* – *клен остролистный*. Эффективность применения мелиоранта (доломитовой муки) в дозе, которая может быть рекомендована для *клена* и *липы*, проявляется при уровне засоления ризосферы < 100 г  $\text{NaCl}/\text{м}^2$  в диапазоне кислотности почвенной среды: для *клена* при  $\text{pH}_{\text{KCl}}$  4,7 - 5,2, для *липы* при  $\text{pH}_{\text{KCl}}$  5,3 – 6,0. Под воздействием мелиоранта в листьях *клена остролистного* участие  $\text{Na}^+$  в ионном балансе снижается до 5 раз при отсутствии усиления транспорта  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{K}^+$  в листья, у *липы мелколистной* внесение мелиоранта в ризосферу гомеостатирует 2-кратное снижение концентрации  $\text{Na}^+$  в листовом аппарате адекватным повышением содержания  $\text{K}^+$  и  $\text{Ca}^{2+}$ .

## Структурные перестройки ассимиляционного аппарата *Rhododendron ledebourii* и *Mahonia aquifolium* в связи с адаптацией к низким температурам зимнего периода

Булышева М.М., Котеева Н.К., Миргородская О.Е.

Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН. Проф. Попова, 2, Санкт-Петербург, Россия  
[nkoteyeva@binran.ru](mailto:nkoteyeva@binran.ru)

Для вечнозелёных растений, произрастающих в умеренном климате, особое значение имеет изучение адаптации клеток листьев к перенесению неблагоприятного периода, в особенности клеток мезофилла, выполняющих основную функцию листа – фотосинтез. В данном исследовании были изучены сезонные изменения в клетках мезофилла двух вечнозелёных покрытосеменных растений: *Rhododendron ledebourii* Pojark. и *Mahonia aquifolium* (Pursh) Nutt.

В летний период в клетках мезофилла этих растений основной объём клетки занимает центральная вакуоль, хлоропласты распределены вдоль клеточной стенки. Хлоропласты имеют хорошо развитую систему гран, крупные крахмальные зёрна. Такая структура клеток и хлоропластов является оптимальной для фотосинтетической функции.

Осенью в клетках мезофилла *R. ledebourii* происходит перестройка ультраструктуры и к зиме устанавливается новый тип структуры клетки: меняется расположение хлоропластов, они скапливаются в проксимальной части клетки, что сходно с изменениями в клетках хвойных. В клетках мезофилла *M. aquifolium* значительного изменения расположения хлоропластов не происходит так же, как в клетках зимнезелёных травянистых покрытосеменных.

У обоих видов происходит статистически достоверное уменьшение объёма центральной вакуоли в зимний период. Это объясняется тем, что снижение объёма вакуоли способствует уменьшению вероятности образования кристаллов льда в клетке. Также для обоих видов были характерны сезонные изменения числа митохондрий в клетке: в зимний период оно увеличивается, что может быть связано с проведением энергозатратных процессов развития морозоустойчивости. В зимний период в хлоропластах крахмальные зёрна у обоих видов почти отсутствуют, они гидролизованы в сахара, выполняющие осмопротекторную функцию. У рододендрона уменьшается число гран и тилакоидов в гранах, у магонии тилакоидная система остаётся хорошо развитой. Индекс гранальности, под которым понимается отношение протяженности сопряженных мембран хлоропластов к протяженности несопряженных, у рододендрона статистически достоверно снижается в зимние месяцы. Разборка тилакоидной системы связана с защитой фотосинтетического аппарата от фотоповреждения. Отсутствие разборки свидетельствует о наличии других защитных процессов.

Измерение параметров газообмена при низких положительных температурах у растений с установившейся зимней структурой показало, что интенсивность фотосинтеза и транспирация намного выше у *M. aquifolium*. Для этого же вида было характерно значительное повышение интенсивности фотосинтеза при повышении интенсивности освещения. При этом у *R. ledebourii* практически нет реакции на повышение интенсивности света, и фотосинтез полностью отсутствует при температуре ниже 6°C.

Таким образом, для двух видов древесных покрытосеменных показаны две стратегии структурных адаптаций фотосинтетического аппарата к неблагоприятному зимнему периоду и две разные стратегии функциональной активности с подавлением фотосинтеза у рододендрона и сохранением у магонии. Изменения в клетках рододендрона сходны с таковыми у хвойных растений, для магонии характерно состояние пластидома, описанное для травянистых зимнезелёных покрытосеменных. Подавление фотосинтеза у рододендрона сопровождается перемещением хлоропластов и перестройкой тилакоидной системы, отсутствие структурных изменений у магонии соответствует сохранению фотосинтеза при низких положительных температурах.

**Всегда ли аккумуляция сахаров в тканях растений коррелирует с их устойчивостью к стрессам****Бурмистрова Н.А., Лунькова Н.Ф., Красавина М.С.**Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН. Ботаническая ул., 35, Москва, Россия.  
[na\\_burmistrova@ippras.ru](mailto:na_burmistrova@ippras.ru); [nina.lunkova@gmail.com](mailto:nina.lunkova@gmail.com)

Работая с трансгенными растениями рапса *Brassica napus* var. *napus* ярового сорта Вестар (Westar) канадской селекции, экспрессирующими ген трансфакторного белка OsMYB, мы обнаружили заметное накопление сахаров в тканях. Поскольку такие растения были более устойчивыми к повышению содержания в среде цинка и меди, предположили связь содержания сахаров с устойчивостью к этим металлам. Такое предположение подкреплялось широко обсуждаемыми функциями сахаров не только как осмотически активных веществ, но и как эффективных антиоксидантов. Однако в экспериментах с растениями рапса дикого типа, выращенными из семян, не удалось проследить взаимосвязь содержания сахаров с устойчивостью растений к ионам меди.

Растения выращивали в камере фитотрона при температуре 20-24°C и фотопериодом 16/8 часов (день/ночь). Растения проращивали в перлите. В 3-недельном возрасте их переводили на водную культуру на ½ среды Хогланда-Снайдерс на месяц. Затем контрольные растения оставались в той же среде, а к среде с опытными растениями добавили CuSO<sub>4</sub> с конечной концентрацией 100 мкМ. Через неделю провели фиксацию растений в спирте. Содержание глюкозы определяли глюкозооксидазным методом (Ольвекс), а сахарозы и фруктозы – методом Рое.

В растениях, находившихся на среде с ионами меди, содержание определяемых сахаров было выше, чем в контрольных растениях. Причем повышение содержания моносахаров было значительнее (приблизительно в 2 раза), чем сахарозы (в 1,4 раза). Если рассматривать соотношение глюкозы и фруктозы в контрольных растениях и находившихся на меди, то разница заключается в том, что у контрольных растений соотношение глюкозы и фруктозы было 1:1, а у растений на меди содержание глюкозы было на 15% выше, чем фруктозы.

Жизнеспособность растений на среде с медью была снижена: растения были существенно меньше по массе в сравнении с контрольными растениями (на 25%) и выглядели плохо, особенно резко тормозился рост корневой системы (в среднем на 40%). У многих растений, находившихся на среде с медью, нижние листья были подвявшими, некоторые из них отвалились, что, скорее всего, является способом детоксикации – выведения из растения избытка ионов меди.

Подытоживая полученные данные, можно сказать, что накопление сахаров в растениях рапса, находившихся на среде с ионами меди, не оказывает эффективного протекторного действия, поскольку жизнеспособность таких растений была снижена. Вероятно, наблюдаемое нами увеличение содержания сахаров связано в большей степени с торможением ростовых процессов, на которые должны были бы расходоваться полученные в ходе процесса фотосинтеза сахара. Показанное в работе превышение содержания глюкозы над фруктозой в растениях рапса, находившихся на среде с медью, также может свидетельствовать о том, что интенсивность ростовых процессов у этих растений снижена, так как глюкоза должна интенсивно расходоваться на процессы роста, а здесь этого не происходит, а она, наоборот, накапливается. Однако, несмотря на наблюдаемое нами торможение ростовых процессов, можно предположить, что ионы меди в данных экспериментах не оказывали существенного влияния на фотосинтез, поскольку накопление сахаров является следствием фотосинтетических процессов, а в наших экспериментах при торможении роста было выявлено интенсивное накопление сахаров.



## Исследование металлрезистентности изолятов микроскопических грибов

Бухарина И.Л., Исламова Н.А.

Удмуртский государственный университет. Университетская, 1, Ижевск, Россия  
[buharin@udmlink.ru](mailto:buharin@udmlink.ru)

Весьма интересным и перспективным является использование в целях фиторемедиации микоризных грибов, которые влияют на доступность металлов в почве, а также способны выступать в роли биофильтров при поступлении питательных веществ и металлов в растения. Таким образом, микоризация открывает новые возможности для фитостабилизации и фитоэкстракции. В основном используется везикулярная арбускулярная микориза (АМ), как типичная эндомикориза. Этот тип микоризы образуется между более чем 90% наземных растений и группой грибов - Glomerales. В научных публикациях показано, что инокуляция растений арбускулярными микоризными грибами (АМГ) может изменять захват элементов в корнях, а также их перенос из корневой зоны в наземные органы растений. Одним из сдерживающих факторов широкого использования АМГ факторов является невозможность культивирования этих грибов вне корневой системы растений.

Также в экспериментах показано более эффективное действие этих грибов при совместной инокуляции с бактериями или другими эндотрофными грибами. В частности показана способность взаимодействия *Glomus mosseae* (АМГ) и *Fusarium equiseti* индуцировать системную резистентность растений огурца для защиты от вирусной мозаики. Выявлен положительный эффект предварительной обработки ко-инокуляцией АМГ и *F. equiseti* или инокуляцией только *F. equiseti*, который проявляется в снижении тяжести вирусного заболевания и увеличении параметров роста. В отношении *F. equiseti* установлен биоконтрольный потенциал против вирусной мозаики огурца.

Особо надо отметить, что *F. equiseti* можно культивировать на питательной среде вне корневой системы растений. Имеются сведения о биорегуляторных функциях ряда других эндотрофных грибов, например, *Cylindrocarpon magnusianum*, который также культивируется на питательных средах.

В связи с этим в наших исследованиях мы провели серию лабораторных экспериментов по изучению металлрезистентности изолятов культур грибов *Fusarium equiseti* и *Cylindrocarpon magnusianum*. Изоляты грибов выделены из корневой системы древесных растений, произрастающих в насаждениях г. Ижевска – крупного промышленного центра Уральского региона (Удмуртия) в условиях высокого содержания тяжелых металлов (ТМ) в почвах.

Была протестирована устойчивость изолятов этих грибов к действию разных концентраций ТМ. При разработке схемы эксперимента в части внесения доз ТМ мы опирались на разработанные значения ПДК для этих элементов, внося дозы менее, равные и превышающие значения ПДК. Исключения составили варианты опыта с использованием солей хрома и алюминия, так как исследуемые грибы в предварительных тестах показывали весьма высокую устойчивость к данным химическим элементам.

Результаты исследований показали, что при внесении в субстрат солей цинка (100, 200 и 300 мг/л) достоверно снижается скорость роста культуры гриба *Fusarium equiseti*, и через 15 дней после посева культуры гриба все варианты имели достоверно меньшие размеры мицелия по сравнению с контролем. При максимальной дозе внесения эта разница составляла 32 мм. При этом в контроле максимальный суточный рост мицелия наблюдался на шестые сутки после посева, а в вариантах с разными концентрациями солей цинка скорость роста возрастала лишь на 9-е сутки. Это же наблюдалось и при внесении меди (50, 100 и 150 мг/л). Но медь оказалась более токсичным элементом для гриба. Концентрация меди 150 мг/л вызвала ингибирование роста гриба и изменение пигментации мицелия.

Второй объект исследований *Cylindrocarpon magnusianum* показал более высокую металлрезистентность в отношении содержания меди и цинка. Хотя более существенное ингибирование роста вызвали соли цинка. С культурой этого вида опыты были поставлены и с солями шестивалентного хрома и свинца. Загрязнение почв этими химическими элементами – актуальная проблема промышленных центров, включая Удмуртию.

Соли хрома в концентрации 2,5 и 5,0 и 10 мг/л не оказали достоверного снижения роста культуры гриба, а внесение солей свинца в концентрации 25 мг/л даже стимулировало рост гриба.

Как и в опытах с *Fusarium equiseti* в контроле максимальный суточный рост мицелия наблюдался на шестые сутки после посева, а в вариантах с разными концентрациями солей тяжелых металлов скорость роста мицелия *Cylindrocarpon magnusianum* возрастала на 9-е сутки после посева.

Полученные результаты свидетельствуют о довольно высокой металлрезистентности исследуемых грибов, что открывает перспективы их использования (а также совместно с АМГ) для управления процессами устойчивости растений к тяжелым металлам, что может быть востребовано в фиторемедиации.

Исследования проводятся при финансовой поддержке гранта РФФИ (проект №16-34-00855).

## Редокс-регуляция пермеабилзации внутренней мембраны митохондрий растений

Буцанец П.А., Шугаева Н.А., Шугаев А.Г.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН. Ботаническая ул., 35, Москва, Россия  
[ag\\_shugaev@ippras.ru](mailto:ag_shugaev@ippras.ru)

Продолжено изучение условий, приводящих к пермеабилзации внутренней мембраны митохондрий растений. Исследуемые митохондрии, выделенные из семядолей этиолированных проростков люпина узколистного (*Lupinus angustifolius* L.) и корнеплодов сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.) отвечали основным критериям физиологической интактности, в частности, они характеризовались целостными мембранами, а также прочным сопряжением процессов окисления и фосфорилирования. Высокая функциональная активность митохондрий подтверждалась их способностью генерировать при окислении сукцината 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, как за счет работы ЭТЦ, так и за счет гидролиза АТФ в условиях анаэробноза. Ранее нами было показано, что присутствие салициловой кислоты (СК) в среде инкубации оказывало слабое разобщающее действие на дыхание митохондрий вследствие известных протонофорных свойств данного фитогормона и вызывало вначале незначительное снижение мембранного потенциала. Однако, затем, после непродолжительного лаг-периода, наблюдалось резкое увеличение проницаемости для протонов внутренней мембраны митохондрий, что регистрировалось по быстрой и полной диссипации дельтапси, которая не обращалась добавкой АТФ. На основании полученных результатов, было высказано предположение, что при определенных условиях СК способна индуцировать пермеабилзацию внутренней мембраны митохондрий растений в результате активации или открытия специального, проницаемого для протонов, разобщающего канала или МРК, который, по-видимому, является особым состоянием (подсостоянием) функционирования поры неспецифической проницаемости (РТР – permeability transition pore) в митохондриях растений. Известно, что активные формы кислорода (АФК), наряду с ионами Ca<sup>2+</sup>, являются важнейшими регуляторами работы РТР в митохондриях животных и растений. Поэтому, для выяснения механизма регуляции МРК нами было изучено действие на его функционирование различных про- и антиоксидантов. Было показано, что прооксиданты, действующие на тиоловые группы белков, такие как диамид или фениларсен-оксид были способны индуцировать пермеабилзацию внутренней мембраны митохондрий растений, т.е. обладали СК-подобным действием. Другие прооксиданты, например, бутил-гидроксипероксид (t-butyl hydroperoxide) активировали МРК только в присутствии экзогенного Ca<sup>2+</sup>. С другой стороны, было установлено, что деполаризация мембраны под влиянием СК предотвращалась при инкубации органелл в присутствии сильных восстановителей, например, дитиотреитола (ДТТ). Присутствие в среде инкубации токоферола также заметно тормозило пермеабилзацию внутренней мембраны митохондрий растений. При этом, не все антиоксиданты оказались способны ингибировать индукцию МРК. В частности, было обнаружено, что такой известный антиоксидант, как N-ацетил-цистеин не ингибировал СК- индуцируемую проницаемость внутренней мембраны. На основании полученных результатов сделан предварительный вывод, что активация МРК в митохондриях растений под влиянием СК имела редокс-зависимую компоненту, при этом важную роль играет, по-видимому, окисление тиоловых групп в молекулах белков, формирующих или регулирующих этот канал.

**Состав липофильных веществ мха *Dicranum Scoparium* Hedw.****Валитова Ю.Н., Хабибрахманова В.Р.\*, Ренкова А.Г., Белкина А.В.\*, Минибаева Ф.В.**

ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, г. Казань, Россия;

\*ФГБОУ ВО Казанский национальный исследовательский технологический университет, г. Казань, Россия  
[yulavalitova@mail.ru](mailto:yulavalitova@mail.ru)

Мхи – древние несосудистые высшие растения – являются удобной моделью для изучения механизмов стрессовой устойчивости высших растений. Высокая устойчивость к действию стрессовых факторов позволяет мхам выживать в крайне суровых условиях. Одним из факторов, определяющих стратегию адаптации мхов, является богатый спектр вторичных метаболитов, в том числе терпеноидов. Настоящая работа посвящена анализу состава липофильных веществ мха *Dicranum scoparium* Hedw..

Цель: подбор условий экстракции липофильных соединений мха Дикранум, позволяющих получить максимальный выход экстрактивных веществ, и исследование их состава для выявления биологически активных липидов.

В ходе экспериментальной работы было проведено получение экстрактов из мха путем настаивания с гексаном в течение 7 суток и с использованием ультразвуковой обработки в течение 5 и 40 минут при температуре 40 С.

Результаты проведенных исследований показали, что наибольший выход экстрактивных веществ - 2,0 % был получен при экстрагировании измельченного мха настаиванием. При ультразвуковой экстракции мха независимо от продолжительности обработки выход экстрактивных веществ был приблизительно в 2 раза меньше и составлял 0,9-1,1 %.

Исследование качественного и количественного состава полученных экстрактов устанавливали с применением инструментальной тонкослойной хроматографии на лабораторном комплексе «САМАГ» (Швейцария).

Было установлено, что все исследуемые экстракты имеют одинаковый качественный состав липидных веществ, всего на хроматограмме было обнаружено 12 пиков. В соответствии со стандартами были идентифицированы стероидные и терпеноидные соединения, триглицериды и жирные кислоты. При этом количественное содержание липидных веществ в полученных экстрактах в зависимости от способа экстракции различалось.

Анализ состава стероидных соединений в полученных экстрактах показал, что независимо от вида растворителя при настаивании выход стероидов был выше приблизительно на 1,5%, тогда как при УЗ экстракции из мха извлекалось на 2,0 % больше эфиров стероидов.

Масс-спектрометрический анализ стероидного состава мха *Dicranum scoparium* Hedw. показал, что преимущественными стеринами мха являются кампестерин (1,15 мкг/ г сыр. в.) и стигмастерин (1,07 мкг/г сыр.в.), также в минорных количествах было показано наличие ситостерина и холестерина.

Содержание терпеноидных соединений в экстрактах мха не зависело от способа экстракции и вида растворителя и составляло 14-17% от суммы экстрактивных веществ. Использование специфического проявителя раствора ДФПГ (дифенилпикрилгидразил) наглядно показало наличие в гексановых экстрактах мха веществ с высокой антиоксидантной активностью (4,0%,  $R_f$  0,24), которые не обнаруживались при экстракции хлороформом.

Можно предположить, что УЗ обработка значительно нарушает целостность клеточной стенки, что способствует выходу стероидных и терпеноидных соединений с наименьшим содержанием сопутствующих липофильных веществ.

Таким образом, в результате проведенных исследований подобраны оптимальные условия экстракции липофильных веществ из мха *Dicranum scoparium* Hedw.: экстракция гексаном в соотношении 1:50 при УЗ обработке в течение 5 минут при температуре  $40 \pm 2^\circ\text{C}$ . Полученный экстракт содержит наибольшее количество стероидных и терпеноидных соединений, а также веществ с высокой антиоксидантной активностью.

## Антиоксидантная активность зерновок овса в условиях ЦНЗ РФ

Варгач Ю.И., Лоскутов И.Г. \*, Мертвищева М.Е.

ФГБУН «Всероссийский селекционно-технологический институт садоводства и питомниководства». Загорьевская ул., 4, г. Москва, Россия;

\*ФГБУН «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова». Большая Морская ул., д. 42, 44, г. Санкт-Петербург, Россия.  
[ulvargach@gmail.com](mailto:ulvargach@gmail.com)

Овес известен своей способностью хорошо приспосабливаться и произрастать в различных климатических условиях. В настоящее время в мире повышается спрос на максимально полезные для здоровья человека продукты питания. Овес может удовлетворить эти потребности. По сравнению с зерном пшеницы, в зерне овса, как правило, содержится большее количество питательных веществ, что привлекательно как для производителей, так и потребителей. Овес богат рядом биологически активных соединений, в том числе бета-глюканом, фенольными соединениями и антиоксидантами. Все больше отечественных и зарубежных работ указывают на то, что продукты, полученные на основе овса, помогают снижать содержание холестерина и оказывают кардиопротекторное действие на организм человека.

В условиях Нечерноземной зоны РФ в 2016 году была проведена оценка образцов овса из коллекции ВИР и выделен 41 образец (20 голозерных и 21 пленчатых) по ряду хозяйственно ценных признаков (урожайности и устойчивости к болезням) различного эколого-географического происхождения. У выделенных образцов определяли антиоксидантную активность муки водных экстрактов методом DPPH с использованием радикала 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (Plank et al., 2012). Перед измельчением пленчатых форм, с зерновок удаляли цветковые чешуи.

В водных экстрактах содержание антиоксидантов в зерновках голозерных форм овса составляли от 4,31% до 9,35%, в среднем – 6,61±1,4%, у пленчатых – от 4,73% до 8%, в среднем – 5,86±1,04%. При этом, наибольшие показатели среди голозерных форм отмечены у разновидностей *A. sativa* var. *maculata* – 9,35±1,47%, *A. sativa* var. *chinensis* – 6,7±1,10%. Среди пленчатых форм выделились образцы с белой и желтой окраской цветковых чешуй: *A. sativa* var. *krausei* – 7,08±1,13%; *A. sativa* var. *mutica* – 6,61±1,07%. У разновидностей *A. sativa* var. *brunnea*, *A. sativa* var. *montana* с коричневой окраской чешуй, после их удаления, содержание антиоксидантов в зерновках оказалось в среднем ниже (4,83±0,94% и 5,43±0,59%, соответственно).

Среди голозерных форм выделились сорта с наиболее высокой антиоксидантной активностью водных экстрактов муки: Ва You 3 (к-15665) – 9,35±1,47%, Сибирский голозерный (к-15063) – 8,24±0,49%, Bai Yan 5 (к-15648) – 7,72±0,46% и Pin 16 (к-15653) – 7,70±0,29%, которые превышали остальные голозерные образцы на 1,94 – 5,04%. Среди пленчатых форм выделились образцы Z 615-4 (к-15349) – 8±0,45% и GN 08214 (к-15358) – 7,17±0,89%, превышавшие остальные образцы на 1-3,27%.

Таким образом, нами установлено, что у голозерных форм овса содержание антиоксидантов в зерновке выше, по сравнению с пленчатыми. В свою очередь, у пленчатого овса в водных экстрактах содержание антиоксидантов в зерновке было выше у форм с белой и желтой окраской цветковых чешуй, по сравнению с коричневой.

**Ризобии, модифицированные псевдофитохелатиновым геном, в фиторемедиации***Вершинина З.Р., Хакимова Л.Р., Сербаева Э.Р. \*, Лавина А.М., Баймиев Ал.Х.*

ФГБУН Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия

\*ФГБОУ ВПО Башкирский государственный университет, Уфа, Россия

[zilyaver@mail.ru](mailto:zilyaver@mail.ru)

Одним из методов очистки земель, загрязненных тяжелыми металлами (ТМ), является фиторемедиация - использование растений для извлечения ТМ из почвы. Для этой цели используются растения, способные выдерживать высокую концентрацию ТМ и накапливать их в себе. Наиболее перспективным направлением в современной фиторемедиации является создание ассоциаций между такими растениями и микроорганизмами, способствующими накоплению ТМ в растениях. Целью данного исследования было получение штаммов ризобий, способных накапливать ТМ и переносить их в растение. Ранее мы получали трансгенные растения томатов с геном *psl*, характеризующиеся высокой адгезией к корням промышленного штамма *R. leguminosarum* 1078. В данном исследовании были получены ризобии *R. leguminosarum* 1078, трансформированные генетической конструкцией, несущей ген псевдофитохелатина *pph* (продукт *pph* способен связывать ТМ). В качестве базового вектора использовали рTurboGFP-B, содержащий изначально ген флуоресцентного белка TurboGFP. Ген псевдофитохелатина *pph* вставляли по сайтам рестрикции BamHI и HindIII, замещая ген TurboGFP. Бактерии *R. leguminosarum* 1078 трансформировали полученной конструкцией методом электропорации. Затем были проведены эксперименты по инокуляции бактериями нетрансгенных и трансгенных по гену *psl* растений томата, с дальнейшим выращиванием в почве, загрязненной кадмием. В случае инокуляции растений модифицированным штаммом содержание кадмия в растениях значительно увеличивалось. Нетрансгенные растения, инокулированные модифицированным штаммом, содержали в 2,7 раз больше кадмия по сравнению с такими же растениями, инокулированными диким штаммом или не инокулированными нетрансгенными растениями. В трансгенных растениях с геном *psl* количество кадмия после обработки модифицированным штаммом увеличилось в 3 раза по сравнению с нетрансгенными и трансгенными растениями, инокулированными диким штаммом, и неинокулированными нетрансгенными и трансгенными растениями. Эти результаты показали, что комплексы, которые образует продукт гена псевдофитохелатина с кадмием, выводятся непосредственно в ризосферу, что в условиях устойчивых ассоциативных взаимодействий способствует накоплению кадмия в растениях. Таким образом, было показано, что ассоциативные симбиозы трансгенных растений с кадмий-связывающими бактериями можно использовать и в фиторемедиации.

Работа поддержана грантами РФФИ-Инициативный № 16-04-00902 А; РФФИ мол\_а №16-34-01076.

**Динамика жирнокислотного состава суммарных липидов и активности ацил-липидных десатураз в почках *Betula pendula* Roth в условиях Якутии**

**Ветчинникова Л.В., Серебрякова О.С., Петрова Н.Е., Татарина Т.Д.\*, Бубякина В.В.\*, Перк А.А.\*,  
Пономарев А.Г.\*, Васильева И.В.\***

ФГБУН Институт леса Карельского научного центра РАН, ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Россия;

\*ФГБУН Институт биологических проблем криолитозоны Сибирского отделения РАН, пр. Ленина, 41, Якутск,  
Россия  
[vetchin@krc.karelia.ru](mailto:vetchin@krc.karelia.ru)

Одно из центральных мест в современной биологии занимает проблема устойчивости растений к гипотермии. Изучение пластичности видов приобретает особую остроту в регионах, где проходит северная граница распространения древесной растительности. В частности, в условиях резко континентального климата Центральной Якутии с широким диапазоном колебания температур (100° С и более) уникальным явлением является произрастание древесных форм растений в зоне распространения многолетней мерзлоты (криолитозона) (Петров и др., 2011; Пономарев и др., 2014). Из лесообразующих пород в данном регионе преобладают хвойные, из лиственных – повсеместно встречается береза. Исследованиями многих авторов показано, что устойчивость растений к действию низких температур обусловлена рядом защитно-приспособительных механизмов, среди которых важная роль отводится липидному обмену.

Целью нашей работы являлось изучение динамики жирнокислотного состава суммарных липидов и активности ацил-липидных десатураз в почках *Betula pendula* Roth в условиях Якутии.

Объектом исследований была восточно-азиатская географическая раса березы повислой. Сбор почек проводили в зимне-весенний период с февраля по май 2013 г. в окрестностях г. Якутска (62° с.ш., 129° в.д.). Липиды из тканей экстрагировали по Фолчу (Folch et al., 1957). Жирные кислоты изучали в виде их метиловых эфиров на газожидкостном хроматографе «Хроматэк – Кристалл-5000 М.1» (Йошкар-Ола, Россия). Коэффициент ненасыщенности жирных кислот и индекс двойной связи рассчитывали по Лайонс и др. (Lyons et al., 1964). Согласно полученным данным, суммарные липиды в почках березы, произрастающей в условиях Якутии, включали 16 жирных кислот, из которых 90% и более (от суммы жирных кислот) были ненасыщенными. Среди насыщенных преобладала пальмитиновая кислота (от 5,5% – в марте до 9,1% – в мае). В составе ненасыщенных идентифицированы моно-, ди-, три- и тетраеновые. Доминирующими группами среди ненасыщенных были как диеновые (от 36,4 до 41,7%), так и моноеновые (от 30,4 до 32,8%) жирные кислоты. В группе моноеновых преобладала олеиновая (от 14,7 до 15,4%). Кроме того, в небольших, но достоверно значимых концентрациях обнаружены три ее изомера 18:1 $\omega$ 7, 18:1 $\omega$ 11 и, в меньшем объеме, 18:1 $\omega$ 5. Среди диеновых, в синтезе которых принимала участие  $\omega$ 6 десатураза, преобладающей была линолевая. Однако ее доля в липидах достоверно снизилась с 22,9% до 19,6% в период зимне-весеннего развития почек березы повислой. Триеновые жирные кислоты, представленные в основном линоленовой кислотой, с февраля по март заметно возрастали (с 8,3% до 23,4%). Благодаря этому, по всей вероятности, поддерживалась не только текучесть мембран хлоропластов, но и другие адаптивные перестройки метаболизма, происходящие в почках березы перед их распусканием. Индекс двойной связи в липидах изученных растений варьировал от 1,93 в феврале до 2,12 – в мае, при этом коэффициент ненасыщенности (или отношение ненасыщенных жирных кислот к насыщенным) снизился в 1,6 раза к началу распускания почек по сравнению с периодом их вынужденного покоя. Кроме того, в почках якутской популяции березы повислой установлены изменения в активности десатураз. Так, обнаружено, что гены ацил-липидной  $\omega$ 9-десатуразы, обеспечивающей введение первой двойной связи, в зимне-весенний период функционировали на высоком, но примерно одинаковом уровне (значение SDR соответствовало 0,85–0,86 за исключением марта, когда произошло его увеличение до 0,96). Олеил-десатуразное отношение (ODR) характеризовалось стабильностью, но было более низким по значениям (от 0,68 до 0,74). Линолеил-десатуразное отношение (LDR) в почках березы повислой по значениям было наименьшим, но имело явно выраженную тенденцию увеличения от февраля к маю (от 0,26 до 0,54). Выявленные изменения в активности десатураз, вероятно, обусловлены особенностями липидного обмена березы повислой, произрастающей в условиях криолитозоны, направленными на сохранение зачатков вегетативных и генеративных органов, расположенных в почках, от действия возвратных холодов, которые возможны в период их распускания.

Таким образом, динамика жирнокислотного состава липидов и активности ацил-липидных десатураз в почках березы повислой в условиях криолитозоны характеризуется высокой концентрацией моно- и диеновых жирных кислот, высокой активностью  $\omega$ 9 десатуразы, а также снижением коэффициента ненасыщенности в зимне-весенний период развития на фоне небольшого, но явно выраженного возрастания значений индекса двойных связей. Предполагается, что обнаруженные особенности жирнокислотного состава суммарных липидов и активности десатураз в почках березы повислой могут отражать адаптивные изменения липидного обмена в условиях экстремального климата Якутии.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания Минобрнауки России (темы № 0220-2014-0009 и № АААА-А17-117020110054-6), а также при поддержке гранта Русского географического общества.

**Флуоресцентные белки как маркеры конъюгативного взаимодействия клубеньковых бактерий**

*Владимирова А.С., Саргалиева Г.М.\*, Гуменко Р.С., Акимова Е.С., Баймиев Ал.Х.*

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН Пр. Октября 71, Уфа, Россия;

\*Башкирский государственный университет. Заки Валиди 32, Уфа, Россия

[r.gumenko@yandex.ru](mailto:r.gumenko@yandex.ru)

Клубеньковые бактерии (ризобии) - граммотрицательные микроорганизмы, обладающие свойством фиксировать атмосферный азот в симбиозе с бобовыми растениями. Симбиотические гены (*sym*-гены) являются неотъемлемой составляющей геномов клубеньковых бактерий, способных к образованию эффективных клубеньков. Именно наличие данных генов дает возможность относить те или иные виды бактерий к группе клубеньковых.

*Sym*-гены включают в себя ответственные за фиксацию азота *nif*-гены, которые кодируют синтез и регуляцию фермента нитрогеназы; *nod*-гены, кодирующие синтез Nod-факторов (НФ), отвечающих за инициацию и специфичность образуемого симбиоза; а также *fix*-гены, которые также необходимы для азотфиксации, часто сцепленные с *nif*-генами, но не гомологичные с ними.

На сегодняшний день проведено большое количество работ, свидетельствующих о высокой мобильности *sym*-генов и подверженности их горизонтальному переносу (ГПГ). Доказано, что данный процесс является неотъемлемой частью эволюции бобово-ризобияльных взаимоотношений.

Наиболее частым механизмом ГПГ симбиотических генов у клубеньковых бактерий является конъюгация. Наиболее удобным методом исследования конъюгативной активности бактерий является использование маркерных генов флуоресцентных белков.

Целью нашей работы стало получение маркированных штаммов клубеньковых бактерий рода *Rhizobium* для исследования их конъюгативной активности.

Большое преимущество GFP-подобных белков как флуоресцентных маркеров обусловлено их способностью образовывать хромофор без участия вспомогательных кофакторов, ферментов или каких-либо субстратов, кроме молекулярного кислорода. Поэтому в настоящее время именно подобные белки являются наиболее удобными и эффективными прижизненными маркерами.

Объектами исследования в данной работе служили бактерии, выделенные из клубеньков бобовых растений умеренного климата, относящихся к роду *R. leguminosarum* *bv. viciae*. Из собранных клубеньков были выделены чистые культуры микроорганизмов. В дальнейшем штаммы были маркированы красным и зеленым флуоресцентными белками. Для этого они были трансформированы генно-инженерными конструкциями, несущими соответствующие гены флуоресцентных белков. Конструкция для трансформации была создана на основе плазмиды широкого круга хозяев рJN105. Данная плазида в своем составе имеет *mob* участок, ответственный за ее мобилизацию. Таким образом можно предсказать, что если штаммы конъюгативно активны, то привнесенная генно-инженерные конструкции также будет в ней задействованы. Суть опыта состояла в том, что два штамма ризобий маркированных разными флуоресцентными белками культивировались совместно в течение двух недель без перемешивания в жидкой культуре или на чашке Петри на агаризованной среде. После этого совместная культура анализировалась на проточном цитофлуориметре Cytomics FC 500 ("Beckman Coulter"). Появление бактерий, содержащих как зеленый, так и красный флуоресцентные белк можно интерпретировать как наличие у них конъюгативной активности.

Работа выполнена при частичном финансовой поддержке грантами РФФИ № 16-34-00278 мол\_а и №17-44-020201 р\_а

## **Зависимость параметров электрических сигналов и индуцированных ими функциональных ответов от природы стимула**

**Воденев В.А., Мудрилов М.А., Хлопков А., Шерстнева О.Н., Катичева Л.А., Акинчиц Е.К.**

Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского. пр-т Гагарина, 23, Нижний Новгород, Россия  
[v.vodeneev@mail.ru](mailto:v.vodeneev@mail.ru)

У растений в ответ на действие факторов различной природы происходит скоординированное изменение активности функциональных процессов, которые обеспечивают развитие специфичного ответа, адекватного изменениям в окружающей среде, которые его вызывают. Развитие системного ответа при локальном воздействии связано с распространением стрессовых сигналов, в частности электрических, к которым относятся потенциал действия (ПД) и переменный потенциал (ВП). Хорошо установленным фактом является то, что распространение электрических сигналов способно вызывать широкий спектр функциональных ответов – экспрессию генов, изменение активности фотосинтеза и дыхания, скорости флоэмного транспорта и др. Если сам феномен развития функционального ответа при распространении электрических сигналов является четко установленным фактом, вопрос о том, насколько такие ответы являются специфичными по отношению к стимулам определенной модальности остается практически неисследованным.

Исследования проводили на проростках гороха посевного (*Pisum sativum* L.), выращенных в контролируемых условиях климатической камеры (KBW-240), световой режим 16/8, температура 24°C. Регистрацию электрической активности осуществляли внеклеточно с помощью стандартных хлорсеребряных электродов ЭВЛ-1М3 и многоканального усилителя ИПЛ-113. Активность фотосинтеза регистрировали с помощью РАМ-флуориметра Dual-РАМ-100 и инфракрасного газоанализатора GFS-3000, а также с применением системы РАМ-Imaging. В работе были использованы раздражители трех типов: 1) раздавливание листовой пластины гороха (площадь раздавливания от ¼ до 1), 2) ожог кончика листа открытым пламенем, 3) постепенный нагрев листа от комнатной температуры до температуры 60 °С.

Показано, что параметры электрических сигналов, индуцированных различными типами раздражителей, различаются. Наиболее выраженные различия имеют место в отношении скорости распространения электрических сигналов, а также декременте – снижению амплитуды и скорости с увеличением расстояния от зоны локального раздражения. Распространение ВП в нераздраженные листья имело место в случае постепенного нагрева и ожога, но не механического повреждения.

Распространяющиеся электрические сигналы вызвали переходное снижение активности фотосинтеза в нераздраженных листьях. Происходило временное подавление ассимиляции, повышение уровня нефотохимического тушения флуоресценции (NPQ), понижение квантовых выходов фотосистем I и II. Такое изменение активности фотосинтеза было не равномерным по площади листовой пластины и коррелировало с амплитудой электрического сигнала. Было показано, что параметры ответа фотосинтеза зависят от природы стимула, вызвавшего электрический сигнал. Так, в частности, при ожоге имело место двухфазное повышение уровня NPQ, в отличие от однофазного при нагреве. Также были обнаружены различия в амплитуде ответов. Мы предположили, что различия в параметрах фотосинтетического ответа могут быть обусловлены различиями в параметрах электрических сигналов, индуцированных стимулами различной модальности.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ, проект № 6.3199.2017/ПЧ.



## Потенциальная аллелопатическая активность растений *Miscanthus* spp.

Водолазский В.С., Давыдова А.Н., Анисимов А.А.

Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, ул. Тимирязевская, 49,  
Москва, Россия  
[alanis152@mail.ru](mailto:alanis152@mail.ru)

Представители рода *Miscanthus* – это многолетние травянистые корневищные растения. В диком виде представители данного рода распространены на территории юго-восточной Азии – в Китае и Японии. В России мискантусы встречаются на Дальнем Востоке – в Приморском Крае, на Сахалине и Южных Курилах. Наибольшее число видов мискантуса произрастает на территории современного Китая, что и обуславливает широкое хозяйственное использование данных растений.

Аллелопатия – это биологическое явление, с помощью которого организм вырабатывает одно или несколько химических соединений (аллелохимикалий), которые влияют на рост, выживание, и воспроизводство других организмов. Аллелохимикалии могут оказывать благоприятное (положительная аллелопатия) или неблагоприятное (отрицательная аллелопатия) воздействие на организмы-мишени (целевые организмы) и образуются растениями в качестве конечных, побочных продуктов или промежуточных метаболитов, которые могут содержаться в стеблях, листьях, корнях, цветках, соцветиях, плодах и семенах растений-доноров.

Аллелопатический потенциал лекарственных растений активно исследуется. Лекарственные растения могут содержать биологически активные соединения, такие как феруловая, кумаровая, ванилиновая, кофейная и хлорогеновая кислоты, которые обладают ингибирующей активностью.

В качестве лекарственного растения первые упоминания о мискантусе встречаются ещё в древнекитайской работе «Бэнь – Цао – Ган – Му» (Целое и Детали Травоведения), датирующейся 1590-м годом. В соцветиях мискантуса китайского обнаружены флавоноидные гликозиды, а в траве и корневищах – флавоноид трисин, фриделин, лупеол, ацетат лупеола, фриенол и изоарборинол. В народной медицине Китая настой из корневищ мискантуса китайского используется в качестве мочегонного средства. Кроме того, имеются рекомендации по применению данного растения для лечения цистита. К сожалению, на сегодняшний день мискантус имеет крайне ограниченное применение в качестве лекарственного растения. Однако наличие в биомассе мискантуса большого количества разнообразных биологически активных соединений – потенциальных аллелохимикалий – позволяет рассматривать его в качестве растения, потенциально обладающего аллелопатической активностью.

В качестве объекта исследований использовали растения мискантуса гигантского (*M. Giganteus*). Ежегодно растения данного вида оставляют после себя на местах произрастания большое количество опада в виде листовых пластинок, которые могут являться основными донорами аллелохимикалий. Для дальнейших исследований использовали водные вытяжки из высушенных при 65 °С листовых пластинок растений, собранных весной после перезимовки.

Для получения вытяжки брали 5 г листовых пластинок, добавляли 50 мл нагретой до 90°C дистиллированной воды и настаивали в течение суток, периодически помешивая. Вытяжки фильтровали через стеклянную вату и хранили при температуре 4 °С до использования. Исследования проводили по следующей схеме: концентрированная вытяжка, вытяжка, разбавленная дистиллированной водой в соотношении 1:1, а также контроль – дистиллированная вода.

В качестве тест-растений использовали яровую пшеницу сорта Иволга. Перед проращиванием семена пшеницы дезинфицировали 10%  $H_2O_2$  в течение 5 минут. В стерилизованные чашки Петри помещали по 100 наклюнувшихся семян, заливали 4 мл рабочего раствора в соответствии со схемой и проводили проращивание при температуре 22 °С.

Измерение биометрических показателей производили на 3 и 7 день от начала проращивания. Различий в показателях всхожести и энергии прорастания между опытными вариантами обнаружено не было.

Статистически значимые различия были выявлены в показателях длины надземной и подземной части растения. Обнаружен эффект усиления ростовых показателей пшеницы при проращивании в условиях экстрактов из растения мискантуса, причём наибольшее усиление отмечалось у растений выращенных при разведении концентрированной вытяжки 1:1. Несколько меньшее усиление наблюдалось у растений, выращенных в условиях концентрированной вытяжки. И, наконец, растения, выращенные в дистиллированной воде характеризовались наименьшими ростовыми показателями. Аналогичная тенденция сохранялась и на 7 день от начала проращивания.

Таким образом, предварительно можно сделать вывод о том, что в биомассе мискантуса гигантского содержатся вещества, стимулирующие рост растений семейства мятликовых, в частности яровой пшеницы. Однако требуется дальнейшее изучения особенностей аллелопатического воздействия растений мискантуса на растения других семейств, что и будет сделано в последующей работе.

## **Новый фотометрический прибор для оценки содержания хлорофилла в полевых условиях**

*Водолазский В.С., Щуклина О.А., Энзекрей Е.С., Анисимов А.А.*

Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, ул. Тимирязевская, 49,  
Москва, Россия  
[nikinikizzz@yandex.ru](mailto:nikinikizzz@yandex.ru)

Портативные приборы для проведения фотометрических исследований получают все более широкое распространение в современных инновационных системах возделывания сельскохозяйственных культур. Это обусловлено целым рядом причин, среди которых можно отметить следующие: достаточно высокая точность диагностики функционального состояния растений, простота эксплуатации в полевых условиях, а также сравнительно малые затраты времени и средств на проведение обследования посевов и посадок растений. Результатом подобного рода диагностики служит информация об обеспеченности растений элементами минерального питания, прежде всего азотом. Соответственно, на основе полученных данным можно рассчитать либо скорректировать дозу азотных удобрений, которую необходимо внести под культуры. Кроме того, возникает возможность дифференцированного внесения удобрений на различных участках поля. Всё это позволяет оптимизировать систему применения удобрений, и, в конечном итоге, сэкономить денежные средства и рабочее время.

На сегодняшний день имеется целый ряд приборов зарубежного производства, при работе с которыми в условиях нашей страны могут возникнуть разнообразные проблемы. Прежде всего это высокая стоимость самого прибора, что влечёт за собой долгий срок окупаемости и тем самым снижает целесообразность его использования, особенно в хозяйствах со сравнительно малой площадью полей. Зарубежные приборы обычно требуют калибровки для учёта местных особенностей различных регионов нашей страны, а также особенностей отечественных сортов и гибридов сельскохозяйственных культур. Кроме того, для многих приборов не разработаны шкалы для пересчёта показаний в нормы внесения удобрений.

Целью нашей работы является разработка нового фотометрического прибора для диагностики функционального состояния посевов и посадок сельскохозяйственных культур, простого, понятного и удобного в использовании, а также адаптированного для работы в условиях Российской Федерации. Впоследствии планируется разработка специализированных шкал для оценки потребностей различных культур в элементах минерального питания.

Кроме того, для прибора разрабатывается программное обеспечение, которое позволит получать данные о состоянии растений напрямую на мобильные устройства, на экран которых будет выводиться информация о состоянии растений и предложения по внесению дополнительной подкормки азотными удобрениями.

В настоящее время создана принципиальная схема работы нового прибора, идёт работа по сборке готового прототипа, а также разрабатываются схемы полевых и вегетационных опытов для физиологического обоснования данных, планируемых получить при его помощи.

**Механизмы солеустойчивости злака *Urochondra setulosa******Вознесенская Е.В., Котеева Н.К., Эдвардс Дж.Э.\****

Ботанический институт им. В.Л. Комарова. Ул. Проф. Попова, 2, Санкт-Петербург, Россия;

\*Вашингтонский Государственный университет. Пульман, штат Вашингтон, США

[voznensenskaya@binran.ru](mailto:voznensenskaya@binran.ru)

*Urochondra setulosa* является единственным представителем рода; произрастает в северо-восточной Африке и юго-восточной Азии на прибрежных песчаных дюнах, солончаках и в эстуариях и обладает высокой солеустойчивостью. Механизмы солеустойчивости у *U. setulosa* были проанализированы в условиях выращивания без соли, а также при поливе 200 mM NaCl или 200 mM KCl. Было проведено изучение анатомии листа, ультраструктуры солевых железок, характеристик газообмена, накопления ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  и изменения осмолярности наряду с содержанием некоторых осмолитов. Измерение газообмена показало стимуляцию фотосинтеза при обработке NaCl, тогда как при обработке KCl наблюдалось снижение фотосинтеза. Максимальный фотосинтез ( $A_{\text{max}}$ ) при максимальной межклеточной концентрации  $\text{CO}_2$  и близком к насыщающему свету, так же как и фотосинтез при условиях выращивания ( $A_{\text{amb}}$ ), были выше у растений, выращиваемых при NaCl, и ниже - при KCl. Повышение осмолярности тканей *U. setulosa* при обработке обеими солями сопровождается увеличением содержания глицин-бетаина, при этом количество пролина остаётся невысоким, и не отличается в разных условиях обработки.

*U. setulosa* имеет  $\text{C}_4$  тип фотосинтеза и Кранц анатомию листа; листья имеют выраженные гребни на обеих сторонах листа. Солевыводящие железки в основном располагаются на боковых поверхностях гребней адаксиальной стороны листа и между жилками над группами бесцветных клеток абаксиальной стороны листа. Железки двухклеточные с базальной и апикальной клетками, расположены на уровне клеток эпидермы и хорошо видны на поверхности листа. Исследование симплазматических связей клеток железки на уровне сканирующей электронной микроскопии после обработки проназой K показало, что базальная клетка соединена с нижележащими клетками (мезофилла или бесцветными клетками) многочисленными плазмодесмами, объединенными в плазмодесменные поля. Базальная и апикальная клетки железки также симплазматически связаны, однако количество плазмодесм меньше, и они не образуют полей. При активной секреции наблюдается интенсивное развитие эндоплазматического ретикулума и многочисленных митохондрий в дистальной части базальной клетки, однако лабиринты клеточной оболочки отсутствуют. Над апикальной клеткой образуется субкутикулярная полость; разрывы кутикулы не обнаружены.

Низковакуумная сканирующая электронная микроскопия, которая позволяет избежать артефактов связанных с фиксацией, показала раннее начало секреции с появлением кристаллов соли уже через 1 час после полива NaCl или KCl. Состав ионов в кристаллах на абаксиальной и адаксиальной поверхностях листа через 30 дней эксперимента был изучен с использованием элементного анализа на уровне сканирующей электронной микроскопии (SEM EDAX). Показано, что кристаллы представляют собой в основном соль, использованную для обработки, однако часть кристаллов содержат  $\text{K}^+$  в условиях обработки NaCl и наоборот. Содержание  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  в тканях листа повышается почти в три раза при соответствующей обработке по сравнению с контролем, при этом при поливе KCl значительно снижается фоновое содержание  $\text{Na}^+$  в тканях. Использование флуоресцентного маркера на внутриклеточное накопление  $\text{Na}^+$  CoroNa Green показало, что содержание натрия несколько повышается в вакуолях клеток обкладки и эпидермы, но остается неизменным в вакуолях клеток мезофилла; в клетках железок содержание ионов натрия не отличается от фонового.

Таким образом, анализ газообмена показал высокий потенциал к адаптации фотосинтетического аппарата у *U. setulosa*. Основными механизмами солеустойчивости является выведение соли через солевыводящие железки и накопление осмолитов. Включение в исследование как NaCl, так и KCl, показало, что, скорее всего, в развитии устойчивости и выведении ионов калия и натрия задействованы одни и те же механизмы, несмотря на то, что натрий токсичен для клетки, а концентрация калия должна поддерживаться на достаточно высоком уровне.

Исследования поддержаны грантом РФФИ 16-16-00089.

## **Влияние биопрепаратов и регуляторов роста на содержание зеатина в растениях фасоли и эффективность симбиоза**

*Волобуева О.Г.*

Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А.Тимирязева. Тимирязевская, 49, Москва  
[ovolobueva@list.ru](mailto:ovolobueva@list.ru)

Формирование бобово-ризобияльного симбиоза обусловлено специфическими механизмами сигнальных взаимодействий и взаимной метаболической интеграцией геномов ризобий и бобового растения. Одним из условий успешного образования и эффективного функционирования симбиотических микробно-растительных систем может служить использование биопрепаратов и регуляторов роста.

В условиях полевого опыта ФГБНУ ВНИИЗБК (г.Орёл) изучали влияние предпосевной обработки семян растений фасоли сортов Гелиада и Шоколадница биопрепаратами Ризоторфин, Альбит и регуляторами роста Корневин и Эпин-экстра на содержание зеатина и эффективность симбиоза. Содержание зеатина в листьях, стеблях и корнях с клубеньками определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Нитрогеназную активность в клубеньках определяли ацетиленовым методом на газовом хроматографе «Цвет – 106». Исследования показали: под влиянием Корневина на фоне инокуляции Ризоторфином содержание зеатина повышалось в листьях на 353%, не изменялось в стеблях и увеличивалось в корнях с клубеньками на 650% растений фасоли сорта Гелиада. У растений фасоли сорта Шоколадница Корневин снижал уровень зеатина в листьях, стеблях и корнях с клубеньками (на 18; 14 и 50% соответственно). Эпин-экстра на фоне инокуляции Ризоторфином повышал уровень зеатина в корнях с клубеньками растений фасоли сорта Гелиада на 320%, по сравнению с контролем; снижал уровень зеатина в листьях и стеблях (на 33 и 97% соответственно) растений фасоли сорта Гелиада, а также в листьях, стеблях и корнях с клубеньками (на 4; 30; 57% соответственно) растений фасоли сорта Шоколадница. Анализ эффективности симбиотической системы растений фасоли при обработке биопрепаратами и регуляторами роста показал, что наивысшие показатели массы и количества клубеньков и активности в них нитрогеназы отмечены у растений фасоли сорта Гелиада при обработке семян Эпином-экстра на фоне инокуляции Ризоторфином, а также Корневином и Альбитом, по сравнению с контролем. У сорта фасоли Шоколадница проявилось протекторное действие Ризоторфина. Наивысшие показатели массы клубеньков, нитрогеназной активности отмечены при обработке семян только Ризоторфином, наименьшие – Альбитом на фоне инокуляции Ризоторфином.

Таким образом, Установлена сортовая реакция растений фасоли на обработку препаратом Эпин-экстра: наибольшей отзывчивостью характеризовался сорт фасоли Гелиада. У растений фасоли сорта Шоколадница в большей степени проявилось действие Ризоторфина. Обработка семян растений фасоли сорта Гелиада препаратом Эпин-экстра на фоне инокуляции приводила к увеличению количества и массы клубеньков, нитрогеназной активности в клубеньках. Это происходило на фоне увеличения содержания зеатина в корнях с клубеньками. У растений фасоли сорта Шоколадница проявилось протекторное действие Ризоторфина. Увеличение нитрогеназной активности в клубеньках наблюдалось при обработке Ризоторфином на фоне повышения содержания зеатина в листьях, стеблях и корнях с клубеньками.

## Влияние аридных условий на физиологические процессы некоторых C<sub>4</sub>-растений Калмыкии

*Волошина Т.В., Дорджиева В.О.*

Калмыцкий государственный университет им. Б.Б. Городовикова. Ул. Пушкина, 11, Элиста, Россия  
[tat-vol.94@mail.ru](mailto:tat-vol.94@mail.ru)

Во флоре Калмыкии, относящейся к аридным регионам, широко представлены растения с C<sub>4</sub>-типом фотосинтеза, дающим им преимущества в произрастании в неблагоприятных условиях. Большая доля C<sub>4</sub>-растений приходится на семейство Маревых (*Chenopodiaceae* L.). Маревые занимают ведущее положение на всех материках, особенно в жарких зонах. В жизни человека маревые имеют разностороннее значение. Большую роль играет в качестве кормовых пастбищных растений в аридных областях прутняк, который также может служить для закрепления песков, сорняками являются лебеда и марь. По данным некоторых авторов лебеда татарская хорошо поедается овцами и лошадьми и может использоваться как кормовое растение.

Нами было проанализировано физиологическое состояние таких представителей, как прутняк простертый (*Kochia prostrata* Schrad), относящийся к кохиоидному типу Kranz-анатомии и растений, относящихся к атриплекоидному типу Kranz-анатомии. Это лебеда татарская (*Atriplex tatarica* L.) и марь белая (*Chenopodium album* L.). Так как физиологические особенности данных культур произрастающих в Калмыкии, исследованы далеко недостаточно, проведено сравнительное изучение водного статуса, пигментного фонда и ростовых процессов, составляющих основу продукционного процесса.

Установлено, что лебеда татарская и марь белая, являясь мезофитами, имели более высокое содержание воды по сравнению с прутняком простертым. У них в процессе вегетации происходило возрастание содержания воды, как в листьях, так и в целом растении. Прутняк снижал общую оводненность от фазы начала бутонизации до фазы образования семян. Показано, что изучаемые растения различались по интенсивности транспирации и характеру ее изменчивости в онтогенезе. Интенсивность транспирации лебеды и мари больше у особей ювенильного возраста по сравнению с генеративными растениями. У прутняка отмечено снижение потери воды в процессе транспирации в ходе вегетации. Анализ ростовых параметров позволил установить, что у прутняка простертого происходило нарастание высоты растений, сырого и сухого веса до генеративной фазы (образование семян). У лебеды и мари высота растений стабилизировалась к фазе бутонизации и начала цветения и существенно не изменялась при последующем развитии. Сырой и сухой вес мари был значительно ниже лебеды, но данные растения характеризовались высокими темпами накопления сухой и сырой биомассы в процессе вегетации за счет увеличения числа побегов. Изучение пигментного фонда данных C<sub>4</sub>-растений показало, что на фазе цветения и образования семян по содержанию зеленых пигментов выделялись растения с атриплекоидным типом Kranz-анатомии (лебеда и марь) по сравнению с кохиоидным типом Kranz-анатомии (прутняк). Более высокий уровень каротиноидов отмечен у прутняка простертого.

Полученные научные данные вносят вклад в разработку механизмов адаптации растений с C<sub>4</sub>-типом фотосинтеза к аридным условиям.

## **Сравнительная характеристика физиологического состояния двух видов подорожника при произрастании в Калмыкии**

*Волошина Т.В., Хечиева В.А.*

Калмыцкий государственный университет им. Б.Б. Городовикова. Ул. Пушкина, 11, Элиста, Россия  
[tat-vol.94@mail.ru](mailto:tat-vol.94@mail.ru)

На территории Калмыкия из семейства Подорожниковых (*Plantaginaceae L*) наиболее распространенными видами являются подорожник большой (*Plantago major L.*) и подорожник ланцетолистный (*Plantago lanceolata L.*), встречающиеся повсеместно. Издавна интерес к данным растениям связан с их высокой и многосторонней лекарственной ценностью и экологической пластичностью. Хорошо изучены анатомия и морфология данных растений, их фармакологические свойства, но явно недостаточно данных об их физиологических параметрах, адаптационных особенностях. Поэтому нами был проведен сравнительный анализ водного режима, роста и продуктивности двух лекарственных видов подорожника, которые хотя и близки по реакции на ряд экологических факторов, но всё же отличаются отношением к водообеспеченности.

Изучение у данных лекарственных растений особенностей водного статуса включало анализ таких показателей как общая оводнённость, интенсивность транспирации и водоудерживающая способность. Установлено, что данные виды подорожника имели довольно высокий уровень оводнённости как целого растения, так и листового аппарата, причем по этому параметру несколько выделялся подорожник большой (80,0%) по сравнению с подорожником ланцетолистным (76,8%). Содержание воды в листьях у него так же было выше. Это может быть связано с тем, что интенсивность транспирации у данного вида была ниже, чем у подорожника ланцетолистного. Данный параметр водного режима играет важную роль в экологических исследованиях и тесно связан с водоудерживающей способностью растений. Исследование этого показателя позволило выявить, что водоудерживающая способность подорожника большого была на 23 % выше, чем у подорожника ланцетолистного.

Изучение ростовых процессов у подорожника большого и ланцетолистного показало, что данные виды имели на фазе цветения высоту 20-35см., 8-10 листьев в розетке, причем со значительно большей фотосинтетической поверхностью у подорожника большого. Это дало возможность растениям данного вида сформировать большую сырую и сухую фитомассу.

Проведённое исследование двух видов лекарственных растений семейства Подорожниковых показало, что их продуктивность во многом определяется характером водного режима и ростовых процессов, что расширяет представления об эколого-биологических особенностях данных лекарственных растений при произрастании в условиях Калмыкии.

## Гормональный контроль микроспорогенеза у *Petunia hybrida* L.

*Воронков А.С., Ковалева Л.В.*

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН. Ботаническая ул., 35, Москва, Россия  
[voronkov\\_as@mail.ru](mailto:voronkov_as@mail.ru)

Мужской гаметофит развивается в пыльнике, в микроспорангиях которого на первой стадии происходит микроспорогенез, из клеток спорогенной ткани развиваются микроспороциты, которые в ходе мейоза дают начало гаплоидным микроспорам. Затем микроспоры дифференцируются в пыльцевые зерна, филаменты тычинок вытягиваются и достигают пестика, внутри пыльников происходит процесс дегенерации тканей, что приводит к раскрытию пыльника и высвобождению пыльцы. Процессы мейоза, развития микроспор и созревания пыльцы обеспечивает многофункциональная ткань – тапетум, прилегающая к генеративным тканям, и обеспечивающая их питание. В процессе развития, тапетум деградирует, что является генетически детерминированным механизмом, а именно программируемой клеточной смертью (ПКС). В настоящее время активно изучаются молекулярные и гормональные аспекты регуляции микроспорогенеза, установлены некоторые сигнальные молекулы, вовлеченные в функционирование клеток тапетума и микроспороцитов.

В данной работе исследована возможная роль в регуляции развития мужского гаметофита петунии двух фитогормонов – ИУК и АБК. В качестве объекта исследования использовали две линии растений петунии: фертильную (с нормальным ходом микроспорогенеза, в ходе которого формируется фертильная пыльца) и стерильную (с абортацией микроспороцитов на стадии мейоза, вследствие чего зрелая пыльца в пыльниках не образовывалась). С помощью иммуногистологического метода проводили визуализацию распределения ИУК и АБК в тканях развивающихся *in vivo* пыльниках, включая генеративные (микроспороциты, микроспоры, пыльцевые зерна) и спорофитные ткани стенки пыльника (тапетум и средние слои). По анализу интенсивности сигнала флуоресцентных меток нами было установлено, что у фертильной линии развитие генеративной ткани сопровождалось монотонным повышением в них уровня ИУК и АБК (на фоне изначально более высокого уровня АБК в тапетуме) и, напротив, его монотонным снижением в клетках тапетума и средних слоев. В стерильной линии абортация микроспороцитов в профазе мейоза, обусловленная нарушениями в ткани тапетума, сопровождалась резким повышением уровней исследуемых фитогормонов в клетках генеративной ткани (выше начального уровня ИУК и АБК в тапетуме) на фоне интенсивного снижения их уровня в клетках тапетума. Таким образом можно заключить, что процесс развития фертильной пыльцы (на стадии мейоза) сопровождался плавным повышением содержания ИУК и АБК в генеративной ткани и снижением его в тапетуме, а абортация микроспороцитов у стерильного клона сопровождалась двукратным повышением уровней ИУК и АБК в генеративной ткани на стадии мейоза, в то время как уровень фитогормонов в средних слоях стенки пыльника сохранялся постоянным.

Ранее было показано, что развитие микроспор и дегенерацию средних слоев и тапетума у петунии сопровождалось пиком выделения этилена. Дезинтеграция тканей тапетума в профазе мейоза у растений стерильной линии, сопровождающая гибель микроспороцитов, проходила на фоне уровня выделения этилена, значительно превышающего уровень этилена у фертильной линии. Известно, что АБК взаимодействует с этиленом, который включается в ПКС при старении. Исходя из литературных данных, можно предположить совместный характер регуляции микроспорогенеза фитогормонами у петунии. Вероятно, что при формировании фертильного мужского гаметофита фитогормоны участвуют в ПКС тапетума, в то время как при абортации микроспороцитов у растений стерильной линии – в ПКС тапетума и генеративной ткани.

## Морфология новых штаммов *Azospirillum* sp., выделенных из корней дикорастущих и культурных злаков Крыма

Газель Е.В. \*, Сидякин А.И.,\* \*\*, Булавин И.В. \*\*

\* Таврическая академия Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Проспект академика Вернадского, 4, Симферополь, Россия

\*\* НПО Биотехсоюз. Дубнинская, д. 79, стр.14, Москва, Россия  
[baickal.em@yandex.ru](mailto:baickal.em@yandex.ru), [info@biotechsouz.ru](mailto:info@biotechsouz.ru)

Известно, что почвенная микрофлора способна оказывать положительное влияние на рост и развитие высших фитобионтов. Взаимодействие бактерий с корнями растений улучшает азотное питание, повышает стрессоустойчивость высших фотосинтезирующих организмов и защищает их от патогенов. В настоящее время бактерии с подобным действием, относят к группе PGPB (plant growth promoting bacteria), которая включает в себя штаммы микроорганизмов, принадлежащих к различным родам, в том числе и роду *Azospirillum*. На сегодняшний день описаны азоспириллы, выделенные в различных регионах мира и России. Относительно ассоциативной рост-стимулирующих микроорганизмов ассоциированных с дикорастущими растениями флоры Республики Крым сведений в научной литературе нет. Поэтому, целью работы было выявление морфологических особенностей штаммов *Azospirillum*, выделенных из корней дикорастущих злаков, флоры крымского полуострова для оценки перспективы их дальнейшего использования в агробиотехнологии.

Растения *Dactylis glomerata* L., *Phleum* sp., *Triticum* sp. изымали из растительных сообществ в июле-августе 2016 г. В лаборатории ООО «Крымбио» НПО Биотехсоюз от растений отделяли корни, отмывали их на качалке в колбах со стерильной проточной и дистиллированной водой. Затем корни измельчали при помощи скальпеля и переносили во флаконы со средой NFb. Культивирование проводили в термостате при 30° в течение 5-7 суток. После инкубации чистые культуры получали на среде RjC. Морфологию 9 чистых культур: В 270, В 272 (*Triticum* sp), В 281-1, В 281-2, В 283-1, В 283-2, В 285 (*Phleum* sp.), В 289, В 290 (*D. glomerata*) изучали на вторые сутки культивирования, с использованием сред: RjC, BMS и МПА.

На среде RjC колонии штаммов В 272, В 281-1, В 281-2, В 283-1, В 285, В 289 точечные, красного цвета, округлой формы с ровным или лопастным краем. Колонии штаммов В 270, В 283-2 и В 290 имели сходную морфологию, но более крупные колонии (размерами от 1 до 5 мм). На мазках, окрашенных по Граму, клетки всех штаммов идентифицировали как грамотрицательные слегка изогнутые палочки. Отмечено наличие цист.

При культивировании на агаре BMS колонии приобретали светло-бирюзовый цвет, имели округлую форму и гладкий край. Размеры колоний: В 272, В 285, В 289 – 1-2 мм; В 281-1, В 283-2, В 290 – 2-3 мм; В 270, В 283-1, В 281-2 – 5 мм. На мазках бактериальные клетки идентифицировались как грамотрицательные прямые или слегка изогнутые палочки, выявлены цисты.

На МПА колонии имели бежевый цвет, округлую форму, ровный или лопастной край, характеризовались точечными и средними размерами. Диаметр колоний штаммов В 270, В 272, В 290 составлял 0,5 мм; В 281-1, В 281-2, В 289 – 1-2 мм; В 283-1, В 285, В 283-2 – 2-3 мм. На мазках клетки выглядели как грамотрицательные палочки. Для всех культур характерно наличие цист.

Таким образом, на основании проведенных исследований морфолого-культуральных признаков новых штаммов бактерий рода *Azospirillum*, выделенных из ризосферы и ризопланы корней дикорастущих злаков крымской флоры установлено, что изученные штаммы *Azospirillum*, при цитоморфологическом сходстве имеют высокую вариативность морфолого-культуральных свойств и отличаются диаметром колоний, их пигментацией.



## **Дифференциальная экспрессия генов митохондриальных энергодиссипирующих систем и антиоксидантных ферментов в процессе деэтиоляции листа пшеницы**

*Гармаш Е.В., Велегжанинов И.О., Силина Е.В., Головки Т.К.*

Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН Коммунистическая ул., 28, Сыктывкар,  
Россия  
[garmash@ib.komisc.ru](mailto:garmash@ib.komisc.ru)

Электрон-транспортная цепь митохондрии растений содержит энергодиссипирующие системы, которые могут участвовать в защите клетки от фотодеструкции, диссипируя избыток восстановителей, в том числе, экспортируемых из хлоропластов. Нами исследованы профили дифференциальной экспрессии генов митохондриальных энергодиссипирующих систем и антиоксидантных ферментов в листьях проростков пшеницы в процессе их деэтиоляции на непрерывном свете ( $190 \text{ мкмоль/м}^2\text{с}$ ). Выявлена светозависимая индукция экспрессии *AOX1a* – гена, кодирующего альтернативную оксидазу (АОХ), которая сопровождалась повышением активности альтернативного пути дыхания. Увеличение экспрессии других генов, кодирующих ротенон-нечувствительные внутренние и внешние НАДН-зависимые дегидрогеназы типа II (*NDA2*, *NDB2*) и разобщающие белки (*UCP1b*), запаздывало на 4-6 ч относительно *AOX1a*. Повышение уровня транскриптов *NDA1* было обнаружено лишь после 12 ч экспозиции проростков на свету и коррелировало с увеличением фотодыхательной активности. После 24-часовой деэтиоляции, когда фотосинтетический аппарат и собственные системы его защиты были полностью сформированы, уровень экспрессии всех исследованных генов мЭТЦ снижался. Сравнение профилей дифференциальной экспрессии генов мЭТЦ и генов, кодирующих изоформы СОД и ферменты глутатион-аскорбатного цикла, свидетельствовало об их скоординированном функционировании для контроля уровня накопления активных форм кислорода и регуляции биосинтеза аскорбата. Сделано предположение, что альтернативный путь дыхания через АОХ действует как модулятор митохондриальной функции во время деэтиоляции.

## Характеристика изоферментного состава $\text{NAD}^+$ -зависимой малатдегидрогеназы в стрессовых условиях

*Гатауллина М.О., Селиванова Н.В., Епринцев А.Т.*

Воронежский государственный университет, Университетская пл., 1, Воронеж, Россия  
[marina.gataullina@gmail.com](mailto:marina.gataullina@gmail.com)

Малатдегидрогеназа (МДГ, 1.1.1.37) - является полифункциональным ферментом цикла Кребса и Хэтч-Слейка, кроме того данный фермент участвует в транспорте малата, синтезе аминокислот и других реакциях. Изучение изоферментного состава мдг показало различия в количестве изоформ в мезофилле и обкладке. В мезофилле в нормальных условиях обнаруживаются не менее 7 изоформ, самыми активными из которых является цитоплазматическая и митохондриальная, в то время как в обкладке их 2. Следует отметить, что генетическая детерминированность этой ферментной системы обусловлена 7 генами. Большое количество мезофильных изоферментов позволяет предполагать, что именно в мезофилле происходит ответ на стрессовые воздействия.

В связи с этим, целью нашей работы являлось изучение действия экстремальных факторов на активность и изоферментный состав МДГ в мезофилле листьев кукурузы.

Моделирование гипоксии осуществляли путем замены атмосферного воздуха другими газами (углекислым газом или азотом). Для изучения температурного стресса использовали экспозицию при температуре 37 и 4<sup>0</sup>С. Засоление создавали инкубацией растений в растворе 150 мМ NaCl. Влияние стресса изучалось в течение 3, 6 и 24 часов. За контроль принимали растения, выращенные в нормальных условиях.

Установлено, что активность МДГ существенно снижалась в первые часы инкубации в гипоксических условиях. Однако после 6 часов наблюдали незначительное увеличение активности фермента, не сопровождающееся появлением дополнительных изоформ. Ранее было установлено ингибирующее действие гипоксии на функционирование других ферментов цикла Кребса.

В условиях засоления активность МДГ увеличивалась в 2,5 раза, при этом резкое возрастание активности обнаружено в первые часы засоления. Такое повышение активности может быть обусловлено появлением новой индуцибельной изоформы фермента. Это связано с усилением «солевого дыхания» и интенсификации цикла Хэтч-Слейка при стрессе.

В условиях теплового стресса (37<sup>0</sup>С) малатдегидрогеназная система показала незначительное увеличение в первые часы инкубации и резкое снижение активности после 3-х часов эксперимента. При экспозиции растений при +4<sup>0</sup>С происходило резкое повышение, а затем уменьшение активности малатдегидрогеназы. Однако такое снижение не является терминальным, т к известно, что кукуруза переносит температуры ниже 5<sup>0</sup>С. Резкое повышение активности может объясняться накоплением метаболитов перед периодом покоя.

Таким образом, малатдегидрогеназная система играет важную роль в ответе на стрессовые воздействия, что связано с изменением метаболизма.

**Восстановление активности митохондрий после совместного действия на проростки гороха обезвоживания и умеренного охлаждения***Генерозова И.П., Буцанец П.А., Шугаев А.Г.*

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН. Ботаническая ул., 35, Москва, Россия.  
[igenerozova@mail.ru](mailto:igenerozova@mail.ru)

Исследовали влияние отдельного и совместного действия обезвоживания и умеренного охлаждения на дыхательный метаболизм митохондрий, выделенных из проростков гороха (*Pisum sativum* L.). Проростки выращивали 2 суток в темноте на влажной фильтровальной бумаге, затем проростки разделяли на партии - контрольные проростки продолжали выращивать при температуре 24°C, другую партию выращивали сутки при пониженной температуре (15°C), третью и четвертую партии помещали на сухую фильтровальную бумагу и выращивали в течение суток при температуре 24°C или 15°C. Затем все проростки вновь возвращали в контрольные условия. Митохондрии выделяли из эпикотилей сразу после неблагоприятных воздействий и после 2-3-х суток восстановления проростков в контрольных условиях. Сразу после действия неблагоприятных факторов, на фоне торможения роста и увеличения водного дефицита тканей эпикотилей, обнаружили пониженную скорость окисления митохондриями дыхательных субстратов (малата и сукцината) в состоянии 3, т.е. в присутствии АДФ, а также пониженную величину дыхательного контроля по Чансу. При этом снижалась активность цитохромного пути митохондриального окисления, сопряженного с синтезом АТФ, тогда как активность нефосфорилирующего альтернативного пути дыхания, катализируемого альтернативной цианид-резистентной оксидазой, возрастала. После возвращения проростков гороха к нормальным условиям выращивания происходило постепенное восстановление метаболической активности митохондрий, причем первоначально восстанавливалась качественная составляющая дыхания за счет инактивации альтернативного пути и повышения активности цитохромного пути дыхания. При этом действие более сильных стрессоров – обезвоживания и комплексного фактора - вызывало более сильные нарушения функционирования митохондрий на 1-2 день восстановительного периода. В то же время, более быстрое восстановление дыхательной активности органелл - на 3 сутки пребывания в контрольных условиях, происходило после совместного действия обезвоживания и умеренного охлаждения. Впервые обнаружено, что по сравнению с окислением сукцината, катализируемого комплексом II электрон-транспортной цепи, реактивация окисления митохондриями НАД-зависимого субстрата (малата), с участием комплекса I, после действия неблагоприятных абиотических факторов, требовало более длительного пребывания проростков в контрольных условиях. Следует также отметить, что восстановление дыхательной активности митохондрий после совместного действия неблагоприятных факторов на 6 сутки роста проростков происходила в то время, когда в контрольном варианте скорость окисления субстратов, в частности, сукцината, начинала снижаться. По-видимому, это связано с длительным ростом проростков в отсутствие света. Возможно более быстрое восстановление функционирования митохондрий, которое происходило после совместного действия на проростки обезвоживания и умеренного охлаждения, в отличие от их отдельного применения, связано с тем, что комплексное воздействие существенно повышало адаптивные способности растений за счет индукции широкого спектра новых белков, участвующих в адаптации к неблагоприятным воздействиям.

## Эффект комбинированного воздействия наноалмазов и метаболитов грибов рода *Trichoderma* на ростовые процессы растений

Голованова Т.И., Филь А.А.

ФГАО УВПО «Сибирский федеральный университет», институт фундаментальной биологии и биотехнологии,  
г. Красноярск, пр. Свободный 79, 660041, Россия  
[tigolovanova@mail.ru](mailto:tigolovanova@mail.ru)

Увеличение техногенной нагрузки на окружающую среду представляет серьезную экологическую проблему. В частности, серьезная опасность в последние годы связана с широкомасштабным применением химических препаратов в земледелии и сельском хозяйстве. Накопление токсичных соединений в растениях может не только вызывать в них нежелательные мутации, но и снижать пищевую ценность биомассы, которая будет представлять опасность для животных и человека. Для защиты растений от токсикантов используют грибы рода *Trichoderma*, которые продуцируют метаболиты, обладающие антагонистической активностью к широкому спектру фитопатогенов и оказывающие положительный эффект на физиолого-биохимические процессы растений. Колонизация корневой системы микромицетами *Trichoderma* увеличивает скорость роста растений, повышает их резистентность к абиотическим стрессам, улучшает обменные процессы. Для связывания и нейтрализации токсических соединений интерес представляют также модифицированные наноалмазы (МНА) взрывного синтеза, полученные в ИБФ СО РАН. МНА обладают высокой коллоидной стабильностью в дисперсионных средах (вода, органические растворители, масла) и применимы для медико-биологических исследований. Физико-химические свойства данных нанокристаллических частиц (прежде всего, химически полиморфная, активная поверхность) определяют их высокие адсорбционные свойства к различным соединениям биологической и небиологической природы, включая токсические (микотоксины, ионы тяжелых металлов). Цель исследований – оценить эффект комбинированного действия МНА и метаболитов *Trichoderma asperellum* МГ 97 на ростовые процессы растений.

Объектом исследования являлась *Avena sativa* L., 1753. Для выращивания использовали почвенный субстрат, включающий: верховой и низовой торф, песок и доломитовую муку (рН 5.5-6.5; N - 30%; P - 30%; K - 40%). Выращивание проводили при естественном освещении (облученность на уровне посевов - 300 мкмоль фотонов/м<sup>2</sup>с), относительной влажности - 75±3% и температуре - 25±2°C. Полив осуществляли отстоянной водопроводной водой, поддерживая относительную влажность почвы на уровне 60%.

В экспериментах использованы реагенты. МНА получены из взрывных наноалмазов российского производства (ООО «Реал-Дзержинск») разработанным в ИБФ СО РАН способом. Фракция МНА со средним размером кластеров в гидрозоль  $d_{50} = 70.6$  нм выделена из суспензии МНА дифференциальным центрифугированием (Avanti J-E, Beckman Coulter, США). Оценка распределения размеров кластеров МНА проведена с помощью Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Ltd., Англия). Сухой порошок МНА получен высушиванием выделенной фракции на ротаторном испарителе Rotavapor R-215 (Buchi, Швейцария). Гидрозоль МНА с концентрацией 3 масс.% получали добавлением деионизованной воды (Milli-Q system, Millipore, США) к навеске порошка наночастиц. Метаболиты *Trichoderma asperellum* получены при глубинном культивировании микромицетов.

Проращивание осуществляли рулонным методом. Контроль: семена растений проращивали в отсутствие метаболитов *T. asperellum* и частиц МНА. Опытные варианты: *Trichoderma* – семена проращивали в растворе метаболитов микромицета; МНА - семена проращивали в гидрозоль МНА (концентрация наночастиц -  $2 \cdot 10^{-5}$  мг/мл); *Trichoderma*+МНА - семена проращивали в растворе, содержащем метаболиты микромицета и МНА.

Отмечено стимулирующее влияние метаболитов грибов рода *Trichoderma* на длину надземной и корневой систем исследуемых растений. Наибольший эффект отмечен на 21 сутки развития растений. Результаты исследований показали достоверное положительное влияние на накопление сырой биомассы растением. У растений под действием метаболитов *Trichoderma asperellum* содержание хлорофилла и желтых пигментов в расчете на сырую массу было больше по сравнению с контрольным вариантом. Под влиянием метаболитов микромицет происходило изменение соотношения форм хлорофиллов. Данные по исследованию кинетических параметров флуоресценции показали, что метаболиты *Trichoderma* не оказывали заметного влияния на скорость электронного транспорта и квантовый выход. МНА способствовали не только линейному росту растений, но и оказывали стимулирующее влияние на продуктивность растений, на кинетические параметры флуоресценции хлорофилла, что позволяет предположить, что МНА могут оказывать влияние на активность метаболических процессов растительного организма. Отмечен положительный эффект комбинированного действия МНА и метаболитов *T. asperellum* на все исследованные физиолого-морфологические и биохимические параметры растений. Под их влиянием существенно изменялась скорость электронного потока и квантовый выход.

Результаты проведенных исследований позволяют сделать вывод, что применение метаболитов грибов рода *Trichoderma* в сочетании с наноалмазами взрывного синтеза оказывает больший положительный эффект на ростовые процессы растений. Механизм наблюдаемого синергизма пока непонятен и требует дальнейшего изучения.

Авторы признательны В.С.Бондарю, заведующему лабораторией Нанобиотехнологии и Биолюминесценции ИБФ СО РАН, за предоставление препарата МНА и полезное обсуждение полученных результатов.

## Роль гормонов в индукции каллусогенеза и регуляции морфогенеза и вторичного метаболизма клеточной культуры *Lychnis chalcidonica*

Головацкая И.Ф., Видершпан А.Н., Бойко Е.В.

Национальный исследовательский Томский государственный университет, пр. Ленина, 36. г. Томск, Россия  
[golovatskaya.irina@mail.ru](mailto:golovatskaya.irina@mail.ru)

Современные фитохимические исследования направлены на поиск новых видов растений, содержащих широкий спектр важных для человека биологически активных веществ. Однако природные запасы растительного сырья ограничены, под угрозой находятся редкие и исчезающие виды растений, ценные в фармакологическом отношении. Возникает необходимость поиска альтернативных источников биологически активных веществ. Одним из таких источников может служить культура клеток растения, полученная в условиях *in vitro*.

Лихнис хальцедонский (*Lychnis chalcidonica* L.), содержащий сапонины, фитоэктистероиды, флавоноиды и другие вторичные метаболиты, относится к фармакологически значимым растениям. Отсутствуют данные о получении клеточной культуры *L. chalcidonica*, не выяснены факторы среды, обеспечивающие каллусогенез и поддержание клеточного роста. В связи с этим, целью исследования стало изучение влияния разных групп гормонов на индукцию каллусогенеза, рост и метаболизм клеточной культуры *L. chalcidonica*.

Для получения каллусной ткани использовали зеленые проростки *L. chalcidonica*, которые разделяли на экспланты и помещали на разные питательные среды. Наиболее оптимальными питательными средами для инициации каллусогенеза на листовых эксплантах были среды Мурасиге-Скуга (МС), содержащие ауксины 2,4-дихлорфеноксиуксусную кислоту (2,4-Д) и индоллил-3-уксусную кислоту (ИУК) и цитокинины кинетин и 6-бензиламинопурин (6-БАП). Последнее сочетание двух гормонов разной природы было пригодно также для инициации каллусогенеза на корневых эксплантах. При многократном и длительном пассировании первичного каллуса на среде МС, содержащей 2,4-Д, нафтилуксусную кислоту (НУК) и 6-БАП, получена стабильная культура.

Культивирование клеточной культуры осуществляли в темноте на модифицированной питательной среде МС с добавлением фитогормонов. Были использованы две среды, различающиеся по составу гормонов ауксиновой (НУК и 2,4-Д) и цитокининовой (6-БАП) природы, и их соотношениям 2,5:1 и 4:1, соответственно.

В процессе культивирования каллуса через равные промежутки времени (5 суток) измеряли его сырую и сухую биомассу. На основе полученных данных рассчитывали ростовые индексы и строили кривые роста каллусных культур.

В результате исследования влияния гормонов ауксинового ряда на регуляцию роста культуры лихниса установили, что при добавлении в среду 2,4-Д масса каллуса активно увеличивалась до 25-дневного возраста. Введение НУК вызывало 4-кратное накопление массы в первые 10 суток с последующим торможением, связанным с ростом отдельных клеток, что подтвердили с помощью цитологических исследований.

Для определения размеров клеток использовали световую микроскопию. Приготовлению микропрепаратов, предшествовала мацерация каллусной массы в 3 N растворе соляной кислоты в течение 30 мин и получение суспензии клеток. Определение размеров клеток каллуса проводили с использованием цифровой камеры и программы Moticam 2300. Измерение длины и ширины клетки осуществляли на фотографиях, сделанных с помощью камеры, установленной на место окуляра микроскопа «Micros» (Австрия).

Цитологический анализ мезоструктуры каллусных культур показал различия клеток по форме. Были отмечены клетки, имеющие округлую, овальную и вытянутую формы, которые могли свидетельствовать об их разных стадиях роста. Круглые мелкие клетки представляют собой меристематические, тогда как вытянутая форма указывает на растяжение или перед делением (средние клетки), или перед дифференцировкой (крупные клетки). Доля крупных клеток на среде с НУК была выше, чем на 2,4-Д, что хорошо согласуется с данными по содержанию воды в соответствующих каллусах.

На примере клеточной культуры горькуши оргаадаи нами показано, что замедление ее роста было связано с накоплением в ней вторичных метаболитов. В связи с этим провели количественный анализ содержания эктистероидов и суммы флавоноидов в каллусной культуре *L. chalcidonica*. Спектрофотометрическое определение вторичных метаболитов показало, что в выросшей на среде с НУК каллусной культуре содержание эктистерона увеличивалось на 82% по сравнению с выросшей на среде с 2,4-Д культурой. При этом суммарное содержание другой группы – флавоноидов – уменьшалось на 36%. Следует ожидать, что наблюдаемые изменения в направлении метаболизма связаны с эндогенным гормональным статусом самих клеток каллуса, обусловленным гормонами питательной среды.

Таким образом, нами впервые получена каллусная культура клеток *Lychnis chalcidonica* L. Показана зависимость индукции каллусогенеза, роста и содержания вторичных метаболитов в клеточной культуре *L. chalcidonica* от разных групп ауксинов и их соотношения с цитокининами в среде культивирования.

**Селен как фактор регуляции метаболических процессов и продуктивности растений лихниса****Головацкая И.Ф., Видершпан А.Н., Бойко Е.В.**Национальный исследовательский Томский государственный университет, пр. Ленина, 36. г. Томск, Россия  
[golovatskaya.irina@mail.ru](mailto:golovatskaya.irina@mail.ru)

Вслед за открытием эссенциальной роли селена в регуляции жизнедеятельности человека он стал предметом научного интереса. Этот химический элемент входит в состав аминокислот селеноцистеина и селенметионина и выполняет каталитические функции, формируя активные центры белков. Селенопротеины участвуют в удалении свободных радикалов, иммунной функции, функции щитовидной железы и сперматогенезе человека и животных. Поскольку большой процент в рационе человека и животных составляет растительная пища, а во многих регионах отмечается дефицит селена в почве и растениях, то особенно актуальным является вопрос о поддержании в растении определенного уровня селена. При этом следует учитывать, что селен может оказывать влияние на жизнедеятельность самого растения, поскольку увеличивает интенсивность фотосинтеза, рост и продуктивность, задерживает старение. Он влияет на устойчивость растений к разному роду стрессорным факторам, в том числе к УФ-радиации, гербицидам, гипотермии и засолению. Недостаточно изучено последствие ранней обработки селеном на последующую жизнедеятельность растений. В связи с этим целью работы было изучение влияния селенита натрия на морфогенез и метаболизм растений *Lychnis chalconica* L. после обработки проростков.

12-дневные проростки *L. chalconica*, выращенные на стерильной жидкой питательной среде Мурасиге-Скуга без (контроль) и в присутствии селена (опыт), были высажены в почвенную культуру на субстрат «Сад чудес» ЗАО МНПП «ФАРТ» (Санкт-Петербург). На протяжении всего эксперимента в качестве источников света служили белые люминесцентные лампы «Philips» (Нидерланды), интенсивность светового потока составила 120–150 мкмоль фотонов/м<sup>2</sup>с. Объектом исследований служили 112-дневные растения *L. chalconica*, которые к этому возрасту утратили листья розетки, поэтому в эксперименте анализировали листья нижних (1–3), средних (4–6) и верхних (7–9) ярусов репродуктивного побега.

Введение низкой концентрации селенита натрия на начальных этапах онтогенеза ускоряло растяжение осевых органов проростка. Опережающий рост обработанных проростков положительно отразился и на последующем морфогенезе растений в почвенной культуре. Опытные растения на стадии цветения характеризовались большей сырой и сухой массой листьев верхних ярусов и соцветий. Увеличение концентрации селенита натрия до 100 мкМ тормозило рост проростков, что в последующем снижало продуктивность растений по сырой массе и тормозило развитие в целом, задерживая растения на стадии вегетации.

Вторичные метаболиты обычно в растениях выполняют защитную функцию от стрессорных факторов внешней среды (абиотических и биотических). У *L. chalconica* важными вторичными метаболитами являются экдистероиды, среди которых наиболее часто встречаемым является экдистерон (ЭКД). В процессе онтогенеза отмечено наибольшее содержание ЭКД в растении на стадии цветения, минимальное – на стадии вегетации. У контрольных растений максимальное накопление ЭКД происходило в цветках, тогда как у опытных – в цветках и листьях. Причем, чем выше действующая концентрация селенита натрия, тем более зрелые листья содержат повышенный уровень ЭКД. Введение селенита натрия в питательную среду на начальных этапах онтогенеза увеличивает содержание ЭКД в листьях, но уменьшает в цветках. Это можно объяснить замедлением развития, и, следовательно, снижением поступления ЭКД из листьев в цветки. Снижение уровня вторичного метаболита может свидетельствовать также о снятии стрессорного действия каких-то факторов или о подключении к защите метаболитов смежных путей защиты.

В качестве других вторичных метаболитов нами исследованы флавоноиды (Фл), которые более широко распространены в растительном царстве, чем ЭКД, и показаны нами в естественной популяции *L. chalconica* в количестве 0,87% от сухой массы. В ходе онтогенеза высокое содержание суммы Фл отмечено на стадии цветения у контрольных растений. В соцветиях их содержание выше, чем в листьях нижних и верхних ярусов генеративного побега. Обработка селенитом натрия на начальных этапах онтогенеза изменяла накопление суммы Фл в растениях. Максимальный уровень суммы Фл отметили в завершивших рост листьях верхних ярусов у обработанных 0,01 мкМ селенитом натрия растений на стадии цветения. Содержание метаболитов увеличивалось в 1,5 раза по отношению к контролю. Обратный эффект наблюдали в стареющих листьях нижних ярусов и цветках, где сумма Фл уменьшалась в 9 и 10 раз, соответственно по сравнению с контролем. На стадии старения растений в листьях верхних ярусов уровень Фл уменьшался в 3 раза.

Таким образом, показано влияние обработки селенитом натрия проростков на рост и уровень вторичных метаболитов (экдистероидов и флавоноидов) в листьях разного физиологического состояния у растений *Lychnis chalconica* на разных стадиях онтогенеза.

**Особенности ответной реакции каллусных культур двух разновидностей *Linum usitatissimum* на действие кадмия на уровне накопления и локализации фенольных соединений и поллютанта**

**Гончарук Е.А., Горчакова Ю.А. \*, Назаренко Л.В. \*, Загоскина Н.В.**

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН. Ботаническая ул., 35, Москва, Россия;

\*Московский городской педагогический университет. 2-ой Сельскохозяйственный пр-д, д.4, Москва, Россия  
[goncharuk.ewgenia@yandex.ru](mailto:goncharuk.ewgenia@yandex.ru)

В последние годы биосфера подвержена возрастающей нагрузке антропогенного воздействия различных источников загрязнения, дестабилизирующих состояние агроэкологических систем. Среди них особую опасность представляют тяжелые металлы, в частности такой высокоопасный поллютант как кадмий, способный накапливаться в растениях даже при низких концентрациях иона в почвенном растворе. Одним из аспектов действия кадмия является его влияние на антиоксидантную систему, в том числе образование низкомолекулярных соединений фенольной природы, которые наряду с другими функциями выполняют и протекторную. Способность поллютанта к накоплению в определенных тканях и органах растений, в свою очередь, определяется и физиолого-биохимическими особенностями растительных организмов, в том числе их устойчивостью к металлу. Лен относится к растениям-аккумуляторам тяжелых металлов и произрастает в регионах, подверженных техногенному загрязнению, что требует исследований в данном направлении. Применение методов биотехнологии позволяет расширить возможности изучения стрессовых воздействий на растения, в частности за счет использования клеточных культур в качестве удобной экспериментальной системы.

Объектом исследования являлись каллусные культуры, полученные из сегментов гипокотилей 14-дневных проростков двух разновидностей льна (*L.usitatissimum*) – льна-долгунца сорта «Ленок» и льна масличного сорта «Санлин». Каллусные культуры культивировали на питательной среде Мурасиге-Скуга при 16-час. фотопериоде в течение 30 дней. В опытных вариантах в питательную среду вносили кадмий в концентрации 60 мкМ и 75 мкМ.

Определяли содержание суммы фенольных соединений, фенолпропаноидов и флавоноидов, извлекаемых 96%-ным этанолом из растительного материала. Оценивали уровень ПОЛ по количеству малонового диальдегида. Мезоструктурный анализ осуществляли на полутонких срезах с использованием фазового контраста на световом микроскопе Olympus (США). Для изучения локализации кадмия материал окрашивали дитизином, для изучения локализации фенольных соединений - реактивом fastblue.

Присутствие кадмия в питательной среде являлось стрессовым фактором для каллусных культур льна, о чем свидетельствовало увеличение уровня ПОЛ. Что касается накопления фенольных соединений, то в этом случае тенденции были различными. В каллусной культуре льна-долгунца в присутствии поллютанта происходило снижение как суммарного содержания фенольных соединений, так и содержания характерных для растений льна-фенолпропаноидов и флавонолов. В каллусной культуре льна масличного тенденция была противоположной - суммарное содержание фенольных соединений, а также флавонолов и особенно фенолпропаноидов возрастало. Вероятно, что эти отличия определяются физиолого-биохимическими особенностями этих разновидностей льна.

Действие стрессора влияет не только на биохимические процессы, но и на структурную организацию клеток и тканей растений. Так, в присутствии кадмия отмечалось уменьшение площади паренхимных клеток у каллусных культур обеих разновидностей, что в большей степени проявлялось при действии более высокой его концентрации. Определение локализации фенольных соединений показало их присутствие в вакуолях, причем интенсивность окраски была более выражена в клетках каллусных культур льна масличного.

Локализация поллютанта также была приурочена к вакуолям, которые характеризовались равномерным окрашиванием у льна масличного, тогда как у льна-долгунца - в виде включений сферической формы. Возможно, что у льна-долгунца инактивирование действия металла происходит путем изоляции токсичных ионов в микровакуолях (в виде сферических структур), тогда как у каллусных культур льна масличного – в содержимом вакуолей, возможно за счет локализованных в них соединений фенольной природы, способных к хелатированию поллютанта. Все это свидетельствует о различиях в ответных реакциях каллусных культур льна-долгунца и льна масличного на действие кадмия.

**Фотосинтетические параметры древесных интродуцентов в условиях полиметаллического загрязнения промышленно развитых урбанизированных экосистем***Горелова С.В., Креславский В.Д. \*, Кособрюхов А.А. \**

ГОУ ДПО ТО «ИПК и ППРО ТО» ул. Ленина, 22, Тула, Россия salix35@gmail.com

\*Институт фундаментальных проблем биологии РАН. 142290, Институтская ул., 2., Пушино, МО  
[vkreslav@rambler.ru](mailto:vkreslav@rambler.ru)

Одной из экологических проблем промышленно-развитых регионов является загрязнение компонентов окружающей среды тяжелыми металлами. Это нарушает биогеохимические циклы, ведет к поглощению и накоплению токсичных элементов в растениях, нарушению их физиологических функций вследствие образования активных форм кислорода (АФК) и развитию окислительного стресса. Накопление избыточного количества АФК может приводить к снижению активности ферментов хлоропластов, чувствительных к окислительному стрессу, и скорости образования АТФ, а также к нарушению структуры тилакоидных мембран. В случае сильного стресса могут необратимо повреждаться ФС 2 и другие фотосинтетические структуры, в случае умеренного – происходит полное или частичное восстановление поврежденной ФС 2 (Креславский и др., 2007).

Фотосинтез – основа функционирования не только растений, но и связанных с ними в цепях питания организмов; источник кислорода для дыхания биоты, в том числе – человека. Любое нарушение фотосинтетических процессов влечет за собой снижение продуктивности растений, выделения кислорода, нарушение баланса газов в атмосферном воздухе.

В настоящее время более 70 % населения планеты проживает в городах, основными продуцентами кислорода в которых являются древесные растения, которые одновременно служат биологическими фильтрами для поллютантов (биоаккумуляция токсичных элементов). Нами были изучены фотосинтетические параметры древесных интродуцентов санитарно-защитной полосы (СЗЗ) предприятий черной металлургии г. Тулы (Косогорский металлургический завод, ПАО «Тулачермет»). Фотосинтетические параметры листьев (или хвои) изучались в пик вегетативной активности – второй декаде июля. Анализ интенсивности фотосинтеза кустарников, произрастающих в СЗЗ предприятий металлургического комплекса, показал, что этот параметр в условиях техногенных аномалий практически не изменялся у боярышника однопестичного и кроваво-красного, гортензии древовидной.

Интродуценты отдела Голосеменные реагировали на воздействие токсичных элементов в среде резким снижением интенсивности фотосинтеза. Так, интенсивность фотосинтеза туи западной в условиях полиметаллического загрязнения почв была в 8,6 раз ниже, чем у растений туи парковой зоны (0,11 мкмоль  $\text{CO}_2/\text{м}^2\cdot\text{с}$  в зоне воздействия металлургических производств по сравнению с 0,95 мкмоль  $\text{CO}_2/\text{м}^2\cdot\text{с}$  в парке). Столь низкая интенсивность фотосинтеза туи западной, произрастающей в зоне техногенных аномалий почв, может быть вызвана накоплением в ее хвое микроэлементов (V, Cr, Fe, Ni), которые при высокой концентрации могут быть токсичны и интенсивным накоплением Cl, вызывающим снижение ее жизненного потенциала и угнетение физиологических процессов (Горелова и др., 2016). Интенсивность фотосинтеза можжевельника казацкого в зоне воздействия металлургических предприятий в 3-4 раза ниже, чем в парковой зоне (0,10-0,14 мкмоль  $\text{CO}_2/\text{м}^2\cdot\text{с}$  по сравнению с 0,41 мкмоль  $\text{CO}_2/\text{м}^2\cdot\text{с}$ ). В то же время интенсивность фотосинтеза ели колючей (Glauca), являющейся устойчивой к техногенному загрязнению урбозкосистем породой (Бухарина и др., 2007, Горелова и др., 2016), была на 37 % больше, чем в рекреационной зоне. В целом, голосеменные интродуценты отличались низкой интенсивностью фотосинтеза по сравнению с покрытосеменными. Интенсивность фотосинтеза изученных видов хвойных составляла 0,06-0,41 мкмоль  $\text{CO}_2/\text{м}^2\cdot\text{с}$ , лиственных кустарников – 1,6-7,3 мкмоль  $\text{CO}_2/\text{м}^2\cdot\text{с}$ .

У кустарников: сирень обыкновенная, снежнаягодник белый, кизильник блестящий, пузыреплодник калинолистный, чубушник венечный отмечалась высокая интенсивность фотосинтеза в зоне воздействия выбросов Косогорского металлургического комбината (производство ферромарганца) по сравнению с условно-чистой зоной (от 2 до 3 раз больше). При этом эффективный квантовый выход  $Y(II)$  и максимальный квантовый выход фотосистемы 2 у ряда вышеперечисленных видов (сирень обыкновенная, пузыреплодник калинолистный, кизильник блестящий), произрастающих в санитарно-защитной зоне Косогорского металлургического завода, в среднем сохранялись на уровне квантовых выходов фотосистемы 2 растений условно чистой зоны, то есть в пределах 0,80-0,83 для величины максимального выхода и 0,4-0,5 для величины эффективного выхода. Такие величины означают, что активность фотосинтетического аппарата этих растений высокая.

Выявленные в ходе проведения исследований закономерности свидетельствуют о хорошей адаптации фотосинтетического аппарата и интенсификации фотосинтетических процессов древесных интродуцентов: сирени обыкновенной, кизильника блестящего, пузыреплодника калинолистного, ели колючей в условиях полиметаллического загрязнения почв Fe, Mn, Zn.



## Изменение параметров физиологического состояния у *Veronica spicata* под воздействием угольной и породной пыли на территории Караканского хребта (Кемеровская область)

Гребенникова А.Ю., Силантьева М.М.

Алтайский государственный университет, Барнаул, пр. Ленина 61  
[grebennikova.ann@mail.ru](mailto:grebennikova.ann@mail.ru)

Биоразнообразие обеспечивает устойчивость экосистем и одной из ключевых функций его является средообразующая. Снижение многообразия жизни приводит к снижению эффективности действия механизма поддержания биосферы в гомеостатическом состоянии. В этой связи каждый вид, популяция имеют не только индивидуальную норму реакции на факторы окружающей среды, но и пределы средообразующей деятельности. Эти пределы могут сильно сужаться под действием стресс-факторов.

С целью сохранения и восстановления биоразнообразия Караканского хребта (Кемеровская область) в 2012 году был создан одноименный заказник (площадью 1,115 тыс. га). На его территории представлены в основном степные и лесные экосистемы

Основной угрозой биологическому разнообразию государственного природного заказника «Караканский» является техногенное воздействие. Исследования, проведенные на ценотическом и видовом уровне фиторазнообразия не выявили существенных изменений, поскольку нарушения в результате начального этапа техногенного воздействия можно зафиксировать только на физиологическом уровне биоиндикации. Эта биологическая особенность определяется тем, что физиологические процессы у растений, в значительной степени определяются условиями окружающей среды. В качестве стресс-факторов на исследуемой территории установлено действие тяжелых металлов, совокупное воздействие газодымовых выбросов и отдельных его компонентов и т.п.

Для проведения исследований заложены две мониторинговые площадки (МП) на территории Караканского хребта в Кемеровской области (МП «Каракан-1», МП «Каракан-2») и одна площадка на территории Алтайского края МП «Парфеново» (контроль), где отсутствует воздействие угольной и породной пыли. МП «Каракан-1», выделенная в качестве наиболее подвергающейся негативному воздействию угольной и породной пыли, находится на расстоянии 900 м от угольного разреза и по дороге к угольному складу ПАО «Кузбасская топливная компания». В проведенных исследованиях методом РАМ-флуориметрии использовался прибор Junior РАМ (Walz, Germany).

Средние значения отношения  $Fv/Fm$  для всех образцов на всех трех рассматриваемых мониторинговых площадках отличались незначительно. Так, например, для образцов отобранных в июле на МП «Каракан-1» в июле средняя величина составила в 2015 г – 0,44 отн. ед., в 2016 – 0,67 отн. ед. Для листьев образцов вероники колосистой на МП «Парфеново» (контроль) средние значения отношения  $Fv/Fm$  в июле составило в 2015 г – 0,61, в 2016 г. – 0,7. Для листьев образцов *Veronica spicata* на МП «Каракан-2», находящейся в пределах буферной зоны предприятия в июле среднее значение отмечено в 2015 г. – 0,72, в 2016 г. – 0,74.

На первый взгляд значение отношения  $Fv/Fm$ , отражающее изменение состояния растений под действием стресс-фактора, не позволило выявить существенных нарушений у растений, выросших в неблагоприятных условиях. Но, при анализе ширины статистического распределения значений отношения  $Fv/Fm$  было установлено, что для видов мониторинговой площадки, подвергающейся в большей степени воздействию стресс-фактора (угольная и породная пыль) характерен сдвиг в сторону наименьших значений по сравнению с контролем.

Для одного из перспективных видов-индикаторов *вероники колосистой* установлено, что растения на МП «Каракан-1» и МП «Каракан-2», подвергающихся воздействию угольной и породной пыли сдвинута в сторону наименьших значений, а также имеет больший разброс показателя, что говорит о снижении продуктивности фотосинтетического процесса в целом. Распределение этого показателя для образцов, выросших в благоприятных условиях, характеризуется суженой нормой реакцией и значения связаны с максимальными выходами флуоресценции.

Аналогично отмеченному выше, соотношение  $Fv/Fm$  параметра, который используется при мониторинге в качестве показателя функционального состояния фотосинтетической системы интактных зелёных тканей растений, у видов-индикаторов на мониторинговых площадках, «Каракан-1», «Каракан-2», изменялось незначительно по сравнению с контролем («Парфеново»). В тоже время анализ распределения  $Fv/Fm$  свидетельствует, что различия существуют. Сдвиг в сторону меньших значений соотношения  $Fv/Fm$  обусловлен ингибированием ФС II (De Prado, 1992; Schreiber, 1994) и уменьшением доли реакционных центров ФС II, не способных к восстановлению  $Q_B$  (Morales, 1991; Ouzounidou, 1993). Следовательно, рассматриваемый стресс-фактор (угольная и породная пыль) оказывает непосредственное влияние на функционирование реакционных центров и первичные процессы фотосинтеза.

Действие стресс-фактора (угольная и породная пыль) на растения фиксируется соотношением  $Fv/Fm$ , который отражает непосредственное влияние на функционирование фотосинтетического аппарата. Таким образом, этот показатель может являться эффективным средством мониторинга стрессорных воздействий окружающей среды на растение, как в случае воздействия угольной и породной пыли на экосистемы Караканского хребта.

## **Пространственная неоднородность фотосинтетического ответа, индуцированного электрическим сигналом, в листе гороха**

*Громова Е.Н., Мудрилов М.А., Катичева Л.А., Сухов В.С., Воденев В.А.*

ФГАО УВО «Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского». пр. Гагарина, д. 23,  
Н.Новгород, Россия  
[kater333@inbox.ru](mailto:kater333@inbox.ru)

В настоящее время показано, что переменный потенциал (ВП), распространяясь по растению, способен вызывать ряд функциональных ответов, таких как обратимая инактивация фотосинтеза, уменьшение поглощения  $\text{CO}_2$  листом, снижение квантовых выходов фотосистем I и II, рост нефотохимического тушения и др. Целью настоящей работы стало исследование пространственной неоднородности фотосинтетического ответа в плоскости листа и анализ связи такого распределения с распространением ВП по листовой пластинке.

Объектом исследования являлись проростки гороха (*Pisum sativum* L.), сорт Альбумен, 18-24-дневного возраста, выращенные гидропонным способом в климатической камере (25°C, 12-ти часовой световой период). Генерацию ВП индуцировали, обжигая кончик первого зрелого листа открытым пламенем в течение 3-4 секунд. Биоэлектрические реакции регистрировали внеклеточно при помощи хлорсеребряных (Ag/AgCl) макроэлектродов, трехканального высокоомного усилителя (ИПЛ-113, "Семико", Россия) и ПК. Три измерительных электрода контактировали с различными участками второго зрелого листа через электропроводящий гель, электрод сравнения был погружен в омывающий корни раствор. Для исследования фотосинтетической активности в различных участках второго листа использовали специализированный PAM-флуориметр - IMAGING-PAM MINI Version (Heinz Walz GmbH, Германия), который позволял регистрировать пространственное распределение квантового выхода фотосистемы II (Y(PSII)) и нефотохимического тушения флуоресценции (NPQ).

Было показано, что локальный ожог первого листа гороха вызывал снижение активности фотосинтеза (уменьшение Y(PSII) и рост NPQ) во втором зрелом листе. Такая реакция развивалась в течение нескольких минут после ожога, а амплитуда снижения существенно различалась в различных участках исследуемого листа. Так наибольшие изменения наблюдались по краям листовой пластинки, а минимальные развивались в области средней жилки. Динамика распространения ответа по листу так же была неоднородна. Уменьшение Y(PSII) и рост NPQ изначально развивались по краям нижней части листа, постепенно распространяясь в верхнюю часть и к средней жилке.

Можно предположить, что такое распространение отражает особенности ВП в различных участках листа. Действительно, анализ ВП показал, что наибольшая амплитуда электрического сигнала наблюдается по краям листа, в то время как в области центральной жилки имеет место лишь небольшой по амплитуде ответ. Такой результат показывает определенное соответствие между параметрами ВП и параметрами фотосинтетического ответа в различных участках листа.

Причины, лежащие в основе пространственной неоднородности распределения параметров ВП и вызванного им фотосинтетического ответа в листе требуют дальнейшего исследования. Можно предположить, что такие различия могут быть связаны с различным возрастом клеток листа в разных его участках, так как возбудимость клеток растений зависит, по-видимому, от их возраста. Другой возможной причиной полученных результатов может быть сложный путь распространения ВП по листу.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ, Проект № 6.3199.2017/ПЧ

## Ультраструктурные аспекты адресной защиты клеточных доменов. Анализ трансгенных растений

Гулевич А.А., Куренина Л.В., Ралдугина Г.Н. \*, Юрьева Н.О. \*, Баранова Е.Н.

ФГБУН Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии.  
Тимирязевская ул., 42, Москва, Россия;

\*Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН. Ботаническая ул., 35, Москва, Россия  
[a\\_gulevich@mail.ru](mailto:a_gulevich@mail.ru)

В вегетационный период растения подвергаются воздействию таких абиотических факторов как температура, влажность, атмосферное давление, агрохимические свойства почвы, а также связанные с ними изменения pH и т.п.. Полученные повреждения могут быть компенсированы, не приводя к гибели всего растения, но вызывая локальную клеточную гибель какой-либо ткани без заметного изменения роста и габитуса. Эти процессы могут приводить как к существенному изменению фенотипа растения, так и оставаться незамеченными. Если повреждение имеет временный характер, а также когда происходит деградация клеток в результате программируемой клеточной гибели или других процессов, изменения затрагивают, в первую очередь, органеллы и субкомпарменты внутри клетки. Понимание состояния каждого из органелл (субкомпарментов), которое обычно можно было бы охарактеризовать как норму или вариант нормы, остается до сих пор неоднозначным. Изучение характеристик повреждений является актуальной проблемой физиологии растений. Абиотические стрессы вызывают у растений стрессовую реакцию, в ходе которой увеличивается уровень выработки в клетках активных форм кислорода (АФК). Мишенями для АФК в клетках могут быть различные молекулярные процессы, клеточные субкомпарменты. Важным изменением у подвергшихся стрессовому воздействию клеток является изменение осмоса или его регуляции. Удобной моделью для исследования структурных преобразований являются трансгенные растения, в геном которых введен ген, относящийся к функционированию окислительной, осмотической или связанными с ними другими системами.

Объектом исследования служили исходные и трансгенные растения картофеля, томата и табака, которые экспрессировали гены FeSOD1,  $\Delta 9$ - и  $\Delta 12$ -ацил липидных десатураз, цитохрома P450SCC. По сравнению с контролем у трансгенных линий были выявлены существенные отличия в физиолого-биохимических показателях и активности ряда ферментов. Размноженные растения-регенеранты поддерживали в культуре *in vitro* при 22°C. Для имитации абиотических стрессов растения переносили на жидкую среду 1/2 MS с добавлением NaCl и Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> в изотонических концентрациях, соответствовавших 400 кПа, либо культивировали в условиях (+8°C) в течение 6 дней. Для ультраструктурного анализа использовали листья и корни растений. На ультратонких срезах клеток различных тканей листа и корня анализировали варианты преобразований пластид, митохондрий, ядер, цитоскелета. Изменения структуры пластид, митохондрий, ядер, цитоскелета отмечены в клетках всех проанализированных трансгенных растений семейства Solanaceae. При действии неблагоприятных стрессовых факторов, а также при последующем возвращении растений в нормальные условия, изменения и нарушения структурной организации клеточных органелл у трансгенных растений отличались от таковых у нетрансгенных. Это указывает на эффективность внедрения трансгенов в растительный геном с целью повышения устойчивости растений к абиотическим стрессам, что также подтверждается данными физиолого-биохимических исследований. При сравнительном изучении ядер установлено, что как экспрессия трансгена, так и действие стрессовых факторов вызывают изменение структурной организации ядрышек, количества и расположения конденсированного хроматина. Кроме того, следует отметить явное изменение формы ядра, а также появление инвагинаций ядерных оболочек. Форма, размеры и внутренняя структура пластидного компартамента могут сильно различаться в зависимости от типа ткани и органа растения. В пластидах корня наблюдали заметные отличия в структуре, расположении, количестве запасных веществ, плотности стромы и количестве нуклеоидов. Отличия отмечены в форме пластид (круглые, линзовидные, с инвагинациями). В ряде случаев отмечено нарушение деления, вызывающие образование гигантских пластид. При анализе изменения состояния митохондрий также установлены различия в структурной организации, размерах и расположении в клетках различных типов ткани листа и корня. Экспрессия трансгенов оказывала значительное влияние как на размер и форму органелл, так и на размер и организацию крист, а также на наличие или отсутствие включений. Действие стрессовых факторов способствовало более стабильному состоянию субкомпарментов, что также может свидетельствовать о предполагаемом защитном эффекте перенесенных генов. На ультратонких срезах выявлены специфические изменения цитоскелета (изменение расположения, появления кристаллических образований), аппарата Гольджи и ЭПР (расположение в клетке, изменение формы и размеров), связанные как с действием трансгенов, так и специфичных для воздействия стрессовых факторов. Предварительный анализ полученных данных позволил выявить основные характеристики изменяющихся элементов тонкой структуры каждой органеллы в норме и при наличии повреждений, что предполагает перспективность выявления системы показателей для анализа повреждений каждого отдельного структурного элемента. Работы проводились в рамках ГП 14 по теме госзаданий №0574-2014-0019 и №0574-2014-0004.

## Мезоструктура фотосинтетического аппарата растений-галофитов на приливно-отливной зоне Голарктических морей

Гуляева Е.Н., Марковская Е.Ф., Морозова К.В.

Петрозаводский государственный университет. Пр. Ленина, 33, Петрозаводск, Россия  
[gln7408@gmail.com](mailto:gln7408@gmail.com)

В настоящей работе представлена сравнительная характеристика структурно-функциональных особенностей листьев доминантных видов галофитов, произрастающих на разных экотопах побережья Белого моря (*Plantago maritima* L, *Triglochin maritima* L, *Tripolium vulgare* Ness, *Glaux maritima* L).

Исследование анатомии листа доминантных видов растений, произрастающих на приморских территориях Белого моря показывают, что каждый из этих видов имеет собственные адаптивные особенности, которые были результатом освоения приливно-отливной зоны. Эти специфические особенности обеспечили этим видам практически одинаковое успешное произрастание на приморской территории и формирование сходных адаптивных признаков и помогают справляться с «физиологической засухой» и гипоксией во время приливно-отливной динамики, что характерно для растений на приморских территориях, а также с другим стрессовыми воздействиями.

Приливно-отливная динамика обуславливает гетерогенность изученной территории, что приводит к существованию разных условий произрастания видов, связанных с различной степенью высоты водного столба и временем нахождения растений под водой. Исследование количественных характеристик анатомической структуры листьев у всех исследованных видов растений, произрастающих как на литорали, так и супралиторали показало, что по таким показателям, как размеры клеток эпидермы, палисадной и губчатого мезофилла, а также количеству хлоропластов в клетке растения литорали и супралиторали не различались. Однако достоверные изменения были получены по площади и толщине листьев у всех четырех видов: площадь больше у растений у коренного берега, а толщина – у линии уреза воды. Растения у уреза воды подвергаются более длительному затоплению и сильному действию приливной волны, что приводит к образованию у них более мелких, толстых и более устойчивых к механическому воздействию листьев, снижению высоты растения. Достоверные отличия получены по количеству устьиц на 1 мм<sup>2</sup>. Как оказалось, по мере продвижения от уреза воды к берегу количество устьиц уменьшается. Наши многочисленные исследования показали, что в условиях заливания все виды имеют открытые устьица. Это может означать, что в условиях нахождения в водной среде они могут поглощать углекислый газ из воды. Ранее, на примере *T. vulgare*, была высказана гипотеза о факультативном подключении в условиях заливания функции поглощения CO<sub>2</sub> из бикарбоната, что позволяет организму осуществлять фотосинтез как воздушной, так и в водной среде.

Если сопоставить данные по структуре с данными по функциональной активности листового аппарата исследуемых видов, то прослеживаются некоторые зависимости. К функционально более активным и более адаптированным можно отнести растения *P. maritima*, которые в сочетании с водосодержащей тканью и большим количеством устьиц имеют как высокий фотосинтез, так и водный обмен. У *T. vulgare* наличие аэренхимы и водосодержащей ткани в сочетании с меньшим числом устьиц так же обеспечивают сравнительно высокую, но ниже, чем у подорожника функциональную активность. А у *T. maritima* большой процент аэренхимы снижает долю фотосинтетической ткани в листьях, отсутствие водосодержащей ткани приводит к необходимости более экономной траты воды, низкой устьичной проводимости, но высоким значениям внутренней концентрации CO<sub>2</sub>. Это сочетание обеспечивает более низкие значения как углекислотного, так и водного обменов. *G. maritima*, как единственный представитель группы криногалофитов, имеет высокий уровень функциональной активности и незначительный вклад специализированных тканей в общую структуру растения, что делает его узкоспециализированным видом, распространение которого ограничено в условиях таежной зоны только приморскими экотопами в отличие от других видов.

## **Клубеньковые бактерии дикорастущих бобовых растений Южного Урала как основа для биоудобрений**

*Гуменко Р.С., Владимирова А.С., Саргалиева Г.М.\*, Акимова Е.С.*

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН Пр. Октября 71, Уфа, Россия

\*Башкирский государственный университет. Заки Валиди 32, Уфа, Россия

[r.gumenko@yandex.ru](mailto:r.gumenko@yandex.ru)

Азот является абсолютно необходимым элементом для всех живых организмов. Однако представители растительного и животного мира не способны черпать азот непосредственно из атмосферы воздуха. Такой способностью обладают микроорганизмы (азотфиксаторы), а процесс связывания азота атмосферы этими организмами и перевод его в доступную для усвоения растениями форму называют биологической азотфиксацией. Наибольший вклад в биологическую фиксацию азота вносят симбиозы азотфиксирующих бактерий (ризобий) и бобовых растений. Одним из приемов современного земледелия является применение препаратов для растениеводства на основе полезных микроорганизмов.

Долгое время сельское хозяйство решало эту проблему с помощью использования минеральных азотных удобрений, что позволило резко повысить продуктивность основных сельскохозяйственных культур. Но их интенсивное использование привело к проблеме экологизации с/х производства, что в свою очередь побудило страны мира к переходу к экологичному с/х (органическое земледелие), под которым следует понимать производство продукции с помощью максимального использования биологических факторов повышения плодородия, не оказывающих отрицательного воздействия на природу. Одним из приемов современного земледелия является применение препаратов для растениеводства на основе полезных микроорганизмов. С целью изучения возможности использования клубеньковых бактерий дикорастущих бобовых как основы высокоэффективных биоудобрений впервые было проанализировано около 200 штаммов микросимбионтов данных растений, произрастающих на территории Южного Урала, относящихся к родам: *Rhizobium*, *Mesorhizobium*, *Sinorhizobium*. Апробация данных штаммов была проведена на таких культурах, как горох посевной, вика посевная, люцерна посевная, клевер луговой. В качестве контроля использовались коммерческие биопрепараты, такие как «Ризоторфин». Эффективность штаммов оценивалась по их азотфиксирующей активности и общей эффективности (по урожайности бобовой культуры). По результатам оценки для некоторых испытываемых штаммов были получены сопоставимые результаты, а в некоторых случаях нитрогеназная активность клубеньковых бактерий на 5-10% превышала нитрогеназную активность штаммов, входящих в состав коммерческих биоудобрений. По анализу эффективности результаты были схожи. Поскольку взяты в анализ микроорганизмы являются аборигенными штаммами для Южного Урала, можно предположить, что они будут более приспособлены к данным почвенно-климатическим условиям. Таким образом, полученные данные показывают, что микроорганизмы, полученные из клубеньков дикорастущих бобовых растений вполне пригодны в качестве материала для селекции эффективных штаммов клубеньковых бактерий для использования как основы высокоэффективных биоудобрений бобовых культур.

Работа выполнена при частичном финансовой поддержке грантов РФФИ № 16-34-00278 мол\_а и №17-44-020201 р\_а

## Изучение морфолого-культуральных свойств и биологической эффективности новых штаммов *Azospirillum formosense*

Гусейнова С.Р. \*\*, Сидякин А.И. \* \*\*, Решетник Г.В. \*, Булавин И.В. \*

\*НПО Биотехсоюз, Москва, ул. Дубнинская, д. 79, стр.14

\*\*Таврическая академия Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Симферополь, просп. Вернадского, 4

[baickal.em@yandex.ru](mailto:baickal.em@yandex.ru), [info@biotechsouz.ru](mailto:info@biotechsouz.ru)

В условиях интенсивного земледелия одним из методов повышения урожайности сельскохозяйственных культур является инокуляция растений ростстимулирующими микроорганизмами. Например, бактерии рода *Azospirillum* в ризосфере зерновых культур формируют высокоэффективные микроассоциации, оказывающие положительное влияние на рост и развитие растений. Однако разнообразие азоспирилл, применяемых в агробиотехнологии невелико и ограничивается модельными и близкими к ним по генетическим и антигенным характеристикам штаммами. В связи с этим поиск ростстимулирующих штаммов рода *Azospirillum* является актуальной задачей сельскохозяйственной биотехнологии и промышленной микробиологии.

В работе использовались штаммы *Azospirillum formosense* (S 3 851, S 4 850, S 6 849, S 7 851, S 842 (1)), выделенные в лаборатории биотехнологий ООО Крымбио НПО Биотехсоюз из ризопланы дикорастущих злаков флоры Республики Крым. Морфологию штаммов описывали на средах RjC и агаре BMS на вторые сутки культивирования при 30°C. Для исследования способности роста в жидкой культуре, указанные штаммы *Azospirillum formosense* высевались в колбы с жидкой модифицированной средой RjC. Число жизнеспособных клеток определяли, используя стандартный тест учета колониеобразующих единиц (КОЕ) на агаризованной (1,5% агара) среде. Биологическую эффективность азоспирилл исследовали путем замачивания зерновок пшеницы в полученной культуральной жидкости в течение часа. Обработанные зерновки переносились в чашки Петри на смоченную дистиллированной водой фильтровальную бумагу и сосуды объемом 3 л, содержащие 150 г вермикулита, смоченного до полного насыщения модифицированной минеральной смесью Цинцадзе без источников азота. Культивирование чашек Петри и сосудов производили в фитолюминостате при температуре 26-28° в течение 7 и 16 дней. По истечению указанных сроков выращивания растений измеряли массу растений, длину первого листа и корней, а также количество последних. Полученные данные обрабатывались статистически.

На среде RjC колонии штаммов *Azospirillum formosense* красного цвета, точечные, округлые, с ровным краем и плоским профилем. При культивировании на агаре BMS колонии светло-бирюзовые, округлые, край колоний ровный, профиль плоский. Колонии штамма S 842 (1) точечные. Штаммы S 3 851, S 6 849, S 7 851 образуют колонии диаметром 1-2 мм, S 4 850–1-3 мм.

При культивировании в жидкой среде титр всех штаммов варьировал от 2 до  $10 \cdot 10^8$  КОЕ/мл.

Исследование биологической эффективности штаммов показало, что обработка зерновок культуральной жидкостью с клетками бактерий *A. formosense* S 3 851, S 4 850, S 6 849, S 7 851 способствовала увеличению массы 7-дневных проростков пшеницы в 1,1 раза, а длины корней в 1,04-1,35 раз, по сравнению с контролем. Количество придаточных корней не изменялось. Увеличение длины листовой пластинки в 0,87-1 раз показано для штаммов S 3 851 и S 4 850, соответственно. Штамм 842(1) проявлял ингибирующее действие по указанным признакам. У 16-дневных растений пшеницы наблюдалось увеличение сырой массы растений в 0,98-1,06 раза и длины корней в 1,01-1,15 раза. Для *A. formosense* S 4 850 и S 3 851 показано увеличение длины листа в 1-1,1 раза. Количество придаточных корней не изменялось.

Исследования показали, что при культивировании на твердых полусинтетических средах штаммов *A. formosense* S 3 851, S 4 850, S 6 849, S 7 851, S 842 (1) морфологические изменения наблюдались в пигментации колоний и их размерах. Биологическая эффективность штаммов выражается как увеличение сырой массы растений и длины их корней.

## Коллекции культур микроводорослей: правовые аспекты

*Давидович Н.А.*

ФГБУН «Карадагская научная станция им.Т.И. Вяземского - природный заповедник РАН», ул. Науки, 24,  
п.Курортное, Феодосия, Крым, Россия  
[karadag-algae@yandex.ru](mailto:karadag-algae@yandex.ru)

Объектами биотехнологии часто становятся микроводоросли. Несмотря на большое разнообразие и широкое распространение микроводорослей в гидросфере Земли, весьма ограниченное число видов фигурирует в лабораторной практике, и еще меньшее их количество используется в биотехнологических процессах. Это объясняется многими причинами, включая недостаточную изученность конкретных видов и групп, а также трудности, связанные с нахождением, идентификацией, извлечением из природных популяций, выделением штаммов и содержанием культур. Существует еще одна важная проблема – правовой статус имеющихся и вновь создаваемых штаммов и коллекций. Поле для обсуждения здесь огромное, начиная от авторских прав и заканчивая международными соглашениями. Некоторые объекты, интересные для культивирования и возможного биотехнологического использования, распространены повсеместно, т.е. являются космополитами. В то же время есть виды, которые встречаются в отдельных регионах (странах) и отсутствуют в других. Выделение в культуру – задача не всегда тривиальная, и лишь немногие специалисты делают это эффективно, в частности, если идет речь о микроводорослях. Поэтому те, кто планирует изучение или практическое использование отдельных представителей микробиоты, обычно обращаются к уже имеющимся коллекциям, в надежде получить интересный объект.

Поскольку в современном мире генетическое разнообразие осознается как важнейший ресурс, оно становится предметом не только научных, коммерческих, но и правовых интересов. Уместно упомянуть «*Нагойский протокол регулирования доступа к генетическим ресурсам...*». Страны, подписавшие этот документ, не только получают выгоды от предоставления генетических ресурсов заинтересованным субъектам, но одновременно берут на себя обязательство стимулировать продвижение исследований в области биологического разнообразия.

По-видимому, будет правильным подчеркнуть необходимость, во-первых, создания коллекций микроорганизмов, которых в России на сегодняшний день не так уж много. В особенности это касается морских микроводорослей. Во-вторых, необходимо утверждение правового статуса таких коллекций, что предоставляет возможность широкого использования содержащихся в них штаммов и обмена, в том числе на международной основе. Сегодня, когда к микроводорослям все чаще обращаются как к источникам разнообразных ценных для человека веществ (биодизель, пигменты, антиоксиданты, биологически активные вещества и прочее), становится важным развивать имеющиеся коллекции и создавать новые. Определение и утверждение правового статуса таких коллекций стоит далеко не на последнем месте.

В коллекции лаборатории водорослей и микробиоты Карадагской научной станции РАН в настоящее время содержится более 450 штаммов диатомовых водорослей. Коллекция не имеет пока официального международного статуса и используется в качестве рабочей лабораторной, несмотря на то, что по количеству видов и штаммов диатомовых, содержащихся по принципу пересеваемых культур, она является одной из крупнейших в России. Целевое назначение коллекции сегодня – проведение исследований в области репродуктивной биологии, филогении, биогеографии диатомовых, однако в случае необходимости, при наличии заинтересованности и целевого заказа, расширение коллекции, пополнение ее новыми видами, целенаправленный поиск конкретных видов, выделение клоновых культур, будет исключительно вопросом времени, требуемого для выполнения работ.

## Создание коллекции культур диатомовых водорослей – первый шаг на пути их биотехнологического использования

Давидович Н.А., Давидович О.И., Подунай Ю.А., Полякова С.Л., Силкин М.Ю.

ФГБУН «Карадагская научная станция им.Т.И. Вяземского - природный заповедник РАН», ул. Науки, 24,  
п.Курортное, Феодосия, Крым, Россия  
[karadag-algae@yandex.ru](mailto:karadag-algae@yandex.ru)

Использование любого растения в качестве объекта биотехнологии начинается с того, что его вводят в культуру. И если в отношении высших растений проблема состоит не столько в том, чтобы извлечь объект из природной среды, сколько в возможностях его адаптации к условиям содержания в интенсивной культуре, то в отношении микроорганизмов картина совсем иная. Некоторые группы одноклеточных организмов поражают своим видовым разнообразием. Например, диатомовые водоросли в мире растений представляют собой одну из богатейших групп, по некоторым оценкам их насчитывается на планете порядка 100 000 видов. Разнообразие видового состава тесно связано с разнообразием свойств, в том числе тех, которые человек может использовать в своих целях. Диатомовые водоросли богаты насыщенными и ненасыщенными жирными кислотами, разнообразными пигментами, терпеноидами, биоактивными соединениями. Панцири диатомовых, в первую очередь центрических, перспективны для исследований и использования в области фотоники. При этом можно отметить, что внешних признаков, позволяющих надежно идентифицировать виды, у диатомей крайне мало, так же, как и специалистов, способных это сделать. Очевидно, что в составе команды, перед которой поставлена задача подбора видов диатомовых, подходящих для культивирования, безусловно должен быть систематик, знакомый с этой группой, и специалист, владеющий техникой выделения (создания клонов) и культивирования микроводорослей. Важен опыт работы с диатомовыми ввиду особенностей их жизненных циклов.

Таким образом, в случае с диатомовыми еще до того, как приступить к практическому решению задачи культивирования, необходимо пройти несколько предварительных этапов, включая: (а) обнаружение целевых видов в природных популяциях, (б) извлечение их, создание штаммов (клонов), (г) подбор условий, которые позволят содержать их в культуре. С сожалением приходится констатировать, что наблюдается разрыв между альгологами, интересующимися флористикой, таксономией, биогеографией диатомовых, т.е. тех, кто может обнаружить объекты в природе, распознать их, и с другой стороны, теми специалистами, основной задачей которых является наиболее эффективное производственное культивирование. Соединительным звеном между ними могут и должны выступать лаборатории, в которых накоплен опыт выделения объектов, а именно, одноклеточных водорослей, из природных проб и содержания их в культурах. Таких лабораторий немного, и в качестве одного из положительных примеров можно представить лабораторию водорослей и микробиоты Карадагской научной станции.

Изучая жизненные циклы, системы воспроизведения, распространение диатомовых водорослей, мы в своей научной деятельности сталкиваемся с необходимостью сбора проб из разных мест Мирового океана и континентальных водоемов. Благодаря в совершенстве освоенной технике выделения клоновых культур и накопленному опыту культивирования сотрудники лаборатории смогли собрать внушительную коллекцию морских и пресноводных диатомей, представленную 34 видами из 70 популяций. В совокупности коллекция насчитывает сегодня 456 штаммов. Фактически это одна из крупнейших коллекций живых культур диатомовых водорослей в России. В коллекции содержатся представители родов *Ardissonea* De Notaris, *Climaconeis* Grunow, *Coscinodiscus* Ehrenberg, *Haslea* Simonsen, *Nitzschia* Hassall, *Pleurosigma* W. Smith, *Schizostauron* Grunow, *Tabularia* (Kützing) D.M.Williams & Round, *Asterionella* Hassall, *Eunotia* Ehrenberg, *Hantzschia* Grunow, *Tabellaria* Ehrenberg ex Kützing, *Ulnaria* (Kützing) Compère и др. Имеются виды, отличающиеся особыми свойствами; например, *Haslea karadagensis* Davidovich, Gastineau & Mouget и *H. ostrearia* (Gaillon) Simonsen способны синтезировать оригинальные пигменты синего цвета из группы мареннинов. Эти пигменты интересны не только цветом, но и своей биологической активностью.

Как показывает наша практика, для исследования и инноваций отсутствие объектов, связанное с определенной сложностью извлечения их из природной среды, зачастую является непреодолимым препятствием, которое, на самом деле, возникает по банальной причине недостаточности знаний и опыта. Создаваемые и поддерживаемые коллекции живых микроорганизмов, в нашем случае диатомовых водорослей, призваны устранить это препятствие.



## Аллелопатические свойства некоторых лекарственных растений как потенциальная основа для создания биогербицидов

Давыдова А.Н., Ларикова Ю.С., Кондратьев М.Н.

Российский государственный аграрный университет-МСХА имени К.А. Тимирязева. Тимирязевская ул., 49,  
Москва, Россия  
[red-green216@mail.ru](mailto:red-green216@mail.ru)

Использование синтетических гербицидов для борьбы с сорняками в посевах, на первый взгляд, способствует увеличению урожайности сельскохозяйственных культур за счет сокращения сорняков. Однако чрезмерное их использование в посевах может привести к нарушению окружающей среды в результате деградации сельскохозяйственных земель при уничтожении почвенной биоты, загрязнению грунтовых вод, формированию устойчивых к гербицидам сорняков, уничтожению полезных хищников вредителей и, таким образом, увеличению вирулентности многих видов сельскохозяйственных вредителей. Чтобы избежать негативных эффектов синтетических гербицидов, производятся поиски новых натуральных растительных продуктов, экологически приемлемых, экологически чистых, экономически эффективных и относительно безопасных, так называемых, *природных гербицидов*.

Аллелопатия лекарственных растений может играть жизненно важную роль в выявлении новых аллелохимикалий и будет способствовать ускорению процесса использования природных гербицидов. В настоящее время многие исследователи по всему миру проявляют интерес к лекарственным растениям для поиска новых соединений и показывают, что компоненты лекарственных растений оказывают тормозящее действие на рост разных видов сорняков и потенциально могут быть использованы в посевах сельскохозяйственных культур, либо непосредственно, либо в виде природных гербицидов. Кроме того, имеются сообщения, что поиск аллелопатических растений из числа лекарственных видов осуществляется легче, чем среди других видов, возможно, в связи с существованием в них некоторых химических соединений, которые используются для лечения многих заболеваний у животных и человека.

В качестве объектов исследования были выбраны лекарственные растения, потенциальные доноры аллелохимикалий, четырех видов: ромашка лекарственная (*Matricaria chamomila* L.), полынь горькая (*Artemisia absinthium* L.), пижма обыкновенная (*Tanacetum vulgare* L.) и клещевина обыкновенная (*Ricinus communis* L.). В качестве целевых растений (растений-мишеней) использовали ярутку полевую (*Thlaspi arvense*) и щирицу запрокинутую (*Amaranthus retroflexus*).

Вегетационные опыты проводились в Лаборатории искусственного климата РГАУ-МСХА. Растения ярутки полевой и щирицы запрокинутой выращивали в вегетационных сосудах объемом 3 л на субстрате «Агробалт–С» После появления массовых всходов поверхность почвы в сосудах мульчировалась высушенной биомассой лекарственных растений. Для мульчирования брали навеску лекарственных трав объемом в 20 г. В контрольном варианте в качестве мульчирующего материала использовалась бумага.

При формировании растительного сообщества конкуренция между видами с участием аллелопатических соединений начинается с момента прорастания семян. Этот этап в развитии любого размножающегося семенами растительного индивида считается одним из наиболее уязвимых при действии абиотических и биотических факторов среды. Как показали наши исследования, семена сорных растений обладали разной всхожестью: она была выше у семян ярутки и меньшей у семян щирицы. Негативный эффект на всхожесть семян целевых растений оказал мульчирующий материал всех 4х видов лекарственных растений, причём % ингибирования всхожести семян щирицы не зависел от мульчи видов лекарственных растений и составлял, в среднем, 9-27%.

В значительно большей степени мульчирование поверхности отразилось на всхожести семян ярутки полевой. Процент ингибирования составлял 73-84%, при этом максимальный ингибирующий эффект на всхожесть оказало мульчирование листьями ромашки лекарственной.

Аллелопатический эффект лекарственных растений существенно отразился на состоянии обоих видов целевых растений. По силе ингибирования роста молодых растений щирицы запрокинутой лекарственные растения составили ряд: *Matricaria chamomila* > *Ricinus communis* > *Tanacetum vulgare* > *Artemisia absinthium*. По силе ингибирования роста молодых растений ярутки полевой мульча видов лекарственных растений оказывала практически одинаковое ингибирующее воздействие.

## Регуляция цитокинином экспрессии генов пластидных РНК-полимераз при деэтиоляции проростков *Arabidopsis thaliana*

Данилова М.Н., Дорошенко А.С.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН. Ботаническая ул., 35, Москва, Россия  
[maridaniilova86@yandex.ru](mailto:maridaniilova86@yandex.ru)

В процессе деэтиоляции - перехода растений от роста в темноте (этиоляция, скотоморфогенез) к росту и развитию на свету (фотоморфогенез) этиопласты превращаются в хлоропласты. Биогенез хлоропластов сопровождается формированием тилакоидных мембран, синтезом хлорофилла, а также изменением пластидной транскрипции, главным образом, зависящим от присутствия и активности пластидных РНК полимераз. Они определяют формирование пластидного протеома, без которого невозможна сборка фотосинтетического аппарата. Пластиды высших растений, кроме РНК-полимеразы собственного кодирования (PEP, **p**lastid-encoded RNA **p**olymerase), содержат две РНК-полимеразы ядерного кодирования фагового типа: RPOTr и RPOTrp (NEP, **n**uclear-encoded RNA **p**olymerase), которые отвечают преимущественно за транскрипцию генов "домашнего хозяйства" пластома. Ряд прошлых исследований показывает позитивную роль цитокинина в регуляции процесса деэтиоляции, однако, до настоящего времени не было показано влияния цитокинина на экспрессию генов РНК-полимераз фагового типа (RPOTr и RPOTrp) в процессе превращения этиопласта в хлоропласт при деэтиоляции.

С целью выяснения влияния освещения и цитокинина на экспрессию генов пластидных РНК-полимераз ядерного кодирования 3-дневные этиолированные проростки дикого типа *Arabidopsis thaliana*, выращенные в условиях полной темноты на питательной среде Мурасиге-Скуга/2 с добавлением цитокинина (1 мкМ *транс*-зеатина) и без гормона, переносили в климатическую камеру с интенсивностью света  $120 \mu\text{mol фотонов} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$  и фиксировали образцы после 0.5; 1; 3; 6; 12 и 24 ч освещения. В качестве контроля служил вариант растений, выращенных в темноте без гормона (0 ч), относительно которого нормировали все экспериментальные образцы. Уровень транскриптов изучаемых генов анализировали методом количественного ПЦР в реальном времени, используя в качестве референсного ядерный ген *UBQ10*.

Анализ уровня матриц обоих генов показал, что освещение стимулирует накопление матриц генов RPOTr и RPOTrp в этиолированных растениях уже после 3 ч освещения по сравнению с темновым контролем, то есть свето-зависимая кинетика накопления мРНК двух генов NEP была близкой. Наибольшая активация экспрессии под действием света наблюдалась у гена RPOTr, кодирующего РНК-полимеразу только пластидной локализации (~ в 5 раз), в то время как ген моносубъединичной РНК-полимеразы, функционирующей и в пластидах и в митохондриях, активировался в меньшей степени (~ в 3 раза). Освещение этиолированных проростков, выращенных на среде с добавлением *транс*-зеатина (1 мкМ), стимулировало повышение уровня транскриптов обоих генов на всех временных точках по сравнению со световыми образцами. Наибольший активирующий эффект цитокинина наблюдался после 6 ч совместного действия света и цитокинина для обоих генов. Этиолированные проростки, выращенные на среде с гормоном (1 мкМ *транс*-зеатина) в темноте, характеризовались снижением длины гипокотыля и активацией экспрессии гена-маркера ответа на цитокинин, однако в темноте у них не происходило накопления транскриптов генов RPOTr и RPOTrp.

Таким образом, индуцируемое светом превращение этиопластов в хлоропласты сопровождается ростом экспрессии генов моносубъединичных РНК-полимераз RPOTr и RPOTrp. При этом цитокинин на фоне влияния света вызывал большую стимуляцию экспрессии обоих генов NEP. Полученные результаты демонстрируют, что положительное влияние цитокинина на деэтиоляцию хотя бы частично может быть обусловлено активацией экспрессии генов пластидных РНК-полимераз ядерного кодирования. Не вызывает сомнений, что накопление транскриптов этих двух генов в последующем способствует более эффективной деэтиоляции растений. Принимая во внимание полученные данные, представляет интерес исследование роли индивидуальных компонентов сигнальных путей цитокинина и света в регуляции экспрессии генов ключевых участников аппарата транскрипции- РНК-полимераз фагового типа.

Работа выполнена при поддержке Совета по грантам Президента РФ (грант № МК-1908.2017.4).

## АБК-опосредованная регуляция экспрессии генов хлоропластных белков при ответе *Arabidopsis thaliana* на тепловой стресс

Данилова М.Н., Дорошенко А.С., Кудрякова Н.В., Пожидаева Е.С., Кузнецов В.В.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН. Ботаническая ул., 35, Москва, Россия  
[maridaniilova86@yandex.ru](mailto:maridaniilova86@yandex.ru)

Температура представляет собой важный экзогенный фактор, определяющий рост и развитие растений. Изменение температуры выше оптимальной приводит к развитию теплового стресса (ТС), к которому растения вынуждены приспосабливаться в течение всей жизни. Ответ растений на тепловой стресс сопровождается индукцией экспрессии широкого набора генов белков теплового шока (БТШ) и быстрым перепрограммированием большого числа ядерных и оргanelльных генов (митохондрий и пластид). Непосредственное участие в этих реакциях принимают фитогормоны, при этом ключевую роль играет абсцизовая кислота (АБК). Как известно, восприятие сигнала абсцизовой кислоты осуществляется рецепторными белками типа RCAR/PYR/PYL, которые передают сигнал в ядро при помощи семейства протеинфосфатаз типа 2C (PP2C). Целью нашей работы было исследование влияния генов *ABI1* и *ABI2*, кодирующих PP2C белки *Arabidopsis thaliana*, на регуляцию экспрессии хлоропластных генов при тепловом стрессе. Объектом исследования служили мутантные растения *Arabidopsis thaliana abi1-1* и *abi2-1*, созданные на основе родительской линии экотипа *Ler* (дикий тип, ДТ). Растения выращивали в течение 14 дней на агаризованной питательной среде Мурасиге-Скуга в климатической камере при интенсивности освещения  $100 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}^{-1}$ , температуре  $23^\circ\text{C}$  световом периоде 16/8 ч. Действие теплового стресса ( $3 \text{ ч}$  при температуре  $38^\circ\text{C}$  и освещении  $40 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}^{-1}$ ) на физиологическое состояние фотосинтетического аппарата определяли *in vivo* путем измерения индуцированной импульсно-модулированной флуоресценции хлорофилла при помощи прибора Dual-PAM (Walz, Германия) в 5 и 6 настоящих листьях мутантов и ДТ, а также с помощью определения содержания хлорофиллов. Накопление транскриптов анализировали методом количественной ПЦР в реальном времени, используя в качестве референсного ядерный ген *UBQ10*. Уровни хлоропластных белков D2 и БС РБФК определяли методом вестерн-блот анализа с помощью коммерческих поликлональных антител (Agrisera). Контролем во всех экспериментах служил вариант дикого типа *Ler*, выращенный при оптимальной температуре  $23^\circ\text{C}$ . Мутанты *abi1-1* и *abi2-1* имели повышенную чувствительность к тепловому шоку (ТШ), согласно оценке содержания продуктов перекисного окисления липидов и выхода электролитов, но достоверно не отличались от ДТ по параметрам флуоресценции хлорофилла. Исследование уровня транскриптов хлоропластных генов *psbA* и *psbD* методом ОТ-ПЦР-РВ, кодирующих белки D1 и D2 реакционного центра фотосистемы II, показало отсутствие активации экспрессии этих двух генов в ответ на ТШ, в отличие от ДТ, который характеризовался достоверным усилением накопления обоих транскриптов. Известно, что распознавание промоторов и активация транскрипции некоторых пластидных генов ФСII в хлоропластах в норме осуществляется сигма-фактором ядерного кодирования- SIG5, который, согласно нашим данным, значительно активируется ТШ и обработкой экзогенной АБК. Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что активация экспрессии *psbD* гена высокой температурой, вероятно, может быть вызвана АБК-опосредованным ростом экспрессии гена *SIG5*. Температурный стресс приводил к снижению уровня белка D2 после 24 ч ТШ у ДТ по сравнению с контролем ( $23^\circ\text{C}$ ). Однако мутанты по сигналингу АБК *abi1-1* и *abi2-1* сохраняли содержание D2 белка на уровне, близком к исходному, вероятно, за счет пониженной способности к его деградации при действии ТШ. Исследование содержания БС РБФК, кодируемой хлоропластным геномом, также показало снижение его уровня в опытных условиях у дикого типа и незначительное изменение у мутантов. Наши данные свидетельствуют об отсутствии корреляции между накоплением транскриптов пластидных генов и содержанием кодируемых ими белков в условиях теплового шока, что указывает на возможность посттранскрипционной регуляции экспрессии изученных генов. Таким образом, полученные результаты позволяют сделать вывод о существовании у растений сложного механизма регуляции хлоропластного генома в ответ на тепловой стресс. Важное значение в формировании устойчивости имеют компоненты сигнального пути АБК - белки ABI1 и ABI2, которые, вероятно, способны оказывать непосредственное влияние на компоненты транскрипционного аппарата пластид. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ (№ 14-04-00584).

**Аллелопатические взаимодействия полевых культур и некоторых сорных видов***Демина О.С., Кондратьев М.Н., Ларикова Ю.С.*РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, Тимирязевская, 49, Москва, Россия  
[Scorpy08@mail.ru](mailto:Scorpy08@mail.ru)

Каждая особь фитоценоза, выделяя во внешнюю среду различные продукты метаболизма, создаёт вокруг себя специфическую среду, которая для рядом произрастающих растений может быть токсичной, благоприятной или индифферентной. Поэтому выделения биогенного характера (живых растений, опада, пожнивных остатков) имеют исключительно важное значение в химическом взаимодействии организмов, называемом аллелопатией, на различных уровнях их существования, начиная с микроскопических существ и заканчивая высшими растениями.

Сорта культурных видов растений, обладающих аллелопатической активностью, могут подавлять рост сорняков, даже устойчивых к гербицидам. Выявление аллелохимического потенциала культурных видов растений может предоставить альтернативу химическим гербицидам. В связи с этим в последние годы обозначился возрастающий интерес к выявлению аллелопатического потенциала сортов различных сельскохозяйственных культур в отношении подавления роста сорняков.

Целью исследований было выявить аллелопатический эффект корневых выделений люпина узколистного с. Кристалл и Радужный, люпина белого с. Дега на рост и развитие сорных растений.

Для этого использовались водные растворы корневых выделений, полученные при выращивании люпина в специально подготовленных воронках с песком. Для определения концентрационной зависимости аллелопатического эффекта растворы корневых выделений растений-доноров доводили до нужной степени разбавления путем упаривания разбавителя. Оценка активности содержащихся в растворах корневых экссудатов люпина проводилась методом биотестов на проростках ярутки полевой и щирицы запрокинутой.

Было выявлено ингибирующее действие водных растворов корневых выделений люпина узколистного и белого на рост корневой системы растений, и стимулирующее – на рост надземной части ярутки полевой и щирицы запрокинутой. Также наблюдались характерные особенности роста корешка у ярутки в варианте с добавлением корневых выделений люпина.

Известно, что наиболее чувствительный период жизни растения – это стадия проростка. Именно в это время растение более всего зависит от окружающих условий. При этом многие виды и сами меняют окружающую среду в первые дни жизни, выделяя химические соединения. Целью другого эксперимента было выявить стимулирующее или ингибирующее действие присутствия проростков люпина на рост проростков сорных видов при совместном выращивании. Для этого проростки растений люпина помещали на фильтровальную бумагу в чашки Петри с проростками ярутки полевой и щирицы запрокинутой в разных соотношениях по количеству. При увеличении доли растений люпина узколистного рост растений ярутки полевой в совместных посевах стимулировался.

Можно предположить, что на начальных этапах роста, растения люпина выделяют в среду соединения, способные стимулировать рост других растений. При этом в возрасте 14-20 дней, в составе корневых выделений люпина преобладают компоненты-ингибиторы роста.

Выявление природных аллелопатических соединений может раскрыть новые возможности снижения использования синтетических гербицидов путём замены их на рострегулирующие вещества растительного происхождения или даже посредством использования вегетативной массы или водных вытяжек из растений, обладающих аллелопатическими свойствами. Таким образом, аллелопатические вещества культурных видов могут быть использованы при контроле сорных растений в агросистемах.

## Перспективные генетические регуляторные факторы повышения продуктивности и устойчивости у Тыквенных

Демченко К.Н., Ильина Е.Л., Кирюшкин А.С., Гусева Е.Д.

Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН. ул. Профессора Попова, 2, Санкт-Петербург, Россия  
[demchenko@binran.ru](mailto:demchenko@binran.ru)

Многочисленные исследования обнаружили наличие связей между генетическими детерминированными признаками корня и продуктивностью сельскохозяйственных культур [Kell, 2011. *Annals of Botany*. 108: 407-418; Hufnagel et al., 2014. *Plant Physiology*. 166: 659-677], в том числе, в условиях засухи [Uga et al., 2013. *Nat Genet*. 45: 1097-1102]. Для реализации стратегии так называемой "корневой селекции" необходима идентификация тех особенностей корня, которые позволяют растению наиболее эффективно использовать воду и питательные вещества при различных условиях окружающей среды. Данная работа посвящена выявлению ключевых генетических механизмов повышения урожайности и устойчивости овоще-бахчевых сельскохозяйственных культур. Нами получены новые данные о базовых механизмах контроля развития корневой системы кабачка (*Cucurbita pepo*) и дыни (*Cucumis melo*), у которых боковой корень формируется непосредственно в меристеме родительского корня. Проанализирована пространственно-временная локализация экспрессии двух ключевых регуляторных генов: транскрипционного фактора *GATA23* и мембранно-связанного киназного регулятора *MAKR4*, а также их роль в регуляции ветвления корневой системы.

Xuan с соавторами (2015) было показано, что индолилуксусная кислота (ИУК), образующаяся в корневом чехлике из его предшественника, индол-3-масляной кислоты, модулирует амплитуду осцилляции этого гормона в корне. Осцилляция ИУК, в свою очередь, определяет, будет ли создана зона компетентности к образованию бокового корня (prebranch site) или нет. Исследования транскриптома *Arabidopsis* позволили идентифицировать новый, регулируемый индол-3-масляной кислотой, компонент разметки корня, такой как *MAKR4* (MEMBRANE-ASSOCIATED KINASE REGULATOR4). Он превращает клетки, компетентные к образованию боковых корней, в непосредственно инициальные клетки будущего примордия бокового корня. Таким образом, по мнению авторов, пространственно-временная разметка корня определяется превращением индол-3-масляной кислоты в ИУК в чехлике и последующим запуском *MAKR4* в базальной части апикальной меристемы [Xuan et al., 2015. *Current Biology*. 25: 1381-1388]. В результате сравнительного филогенетического анализа аминокислотных последовательностей белков семейства *MAKR* *Arabidopsis* и огурца (*Cucumis sativus*) нами был идентифицирован ортолог белка *MAKR4* у огурца (*Cucurbita pepo*). Для идентификации ортологов *MAKR4* у кабачка (*Cucurbita pepo*) и дыни (*Cucumis melo*) по гомологии с геном огурца нами были использованы базы данных GenBank ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)) и CucurbiGene ([cucurbigene.upv.es](http://cucurbigene.upv.es)). Также нами проведен анализ изменения уровней экспрессии гена *SpMAKR4* в ответ на экзогенную обработку пятидневных проростков кабачка фитогормонами в течение 6 ч: 0.3  $\mu$ M ИУК, 5  $\mu$ M индол-3-масляной кислотой (ИМК) и 10  $\mu$ M нафтилуксусной кислотой (НУК). Воздействие ИУК не приводило к статистически достоверному изменению уровня экспрессии *SpMAKR4*, однако, экспрессия этого гена достоверно повышается в 3.21 раза в ответ на обработку ИМК и в 5.37 раза в ответ на обработку НУК. С использованием флуоресцентных репортерных белков проведена локализация экспрессии *MAKR4* в корне кабачка. В докладе обсуждается роль *MAKR4* в развитии начальных этапов инициации бокового корня в меристеме родительского у Тыквенных.

Транскрипционный фактор *GATA23*, выявленный у в результате мета-анализа транскриптомных баз данных на предмет инициации бокового корня, является на сегодняшний день наиболее ранним из всех индикаторов развития бокового корня [De Rybel et al., 2010. *Current Biology*. 20: 1697-1706; Parizot et al., 2010. *Plant Physiol*. 153: 34-40]. В результате изучения последовательных временных точек экспрессии репортерных конструкций *DR5::GUS* и *GATA23::GUS* в корнях *Arabidopsis* была установлена взаимосвязь между экспрессией *GATA23* и ответом на ауксин. Для определения возможных ортологов данного гена у Тыквенных с использованием генетических баз данных нами были идентифицированы все 25 генов *GATA* у огурца, а также проведен сравнительный филогенетический анализ ДНК-связывающего домена генов *GATA* *Arabidopsis* и огурца. Относительные уровни экспрессии 25 генов *GATA* огурца были проанализированы в корне, гипокотиле и семядолях семидневных проростков; молодых листьях 14-дневных проростков, а также цветке и плоде. Были выявлены органоспецифичные различия в уровнях экспрессии этих генов у огурца и предложена группа возможных ортологов *GATA23* *Arabidopsis*.

В докладе также обсуждаются эволюционные механизмы определения места инициации бокового корня вдоль продольной оси главного корня и адаптационные преимущества различных стратегий ветвления корневой системы.

Исследования поддержаны грантом РФФИ 16-16-00089.

## Онтологии и тезаурусы в биологических науках

*Доброногова А.С., Чердниченко М.Ю.*

Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, ул. Тимирязевская, 49,  
Москва, Россия.  
[adobronogova@gmail.com](mailto:adobronogova@gmail.com)

В связи с огромными объёмами электронных документов имеется всё возрастающая потребность в обработке неструктурированной текстовой информации, повышении качества и эффективности имеющихся методов обработки текстов. Основные задачи активно развивающихся направлений обработки неструктурированной текстовой информации – это поиск информации, фильтрация, рубрикация и кластеризация документов, поиск ответов на вопросы, автоматическое аннотирование документа и группы документов, поиск похожих документов и дубликатов, сегментирование документов и многое другое. Изначально для адаптации информации для информационно-поисковых и информационно-аналитических систем были разработаны информационно-поисковые тезаурусы, которые предполагали ручное индексирование. Современной парадигмой компьютерных ресурсов для приложений информационного поиска являются формальные онтологии. Онтологии охватывают большинство слов языка или предметной области и одновременно имеют онтологическую структуру, проявляющуюся в отношениях между понятиями. Широкое использование онтологий в биологических науках началось с 1998 года, с разработки Генной Онтологии (GO). К 2007 году это направление оказалось весьма востребованным, что привело к созданию Open Biomedical Ontologies (OBO) Foundry – коллектива разработчиков, сформировавших принципы разработки онтологий, в которых данные предоставлены в логически и научно сформированном виде.

В целом, в биоинформатике и системной биологии можно выделить следующие задачи, в решении которых применение онтологий дает ощутимый эффект:

1. Интерпретация молекулярно-генетических знаний, семантическая интерпретация методов анализа данных и моделей в системной биологии. В частности, анализ наличия генов терминами из GO (GO Enrichment Analysis) используется для интерпретации данных (например, функциональное описание множества генов), контроля качества, систематизации и отбора данных. Например, для вторичного метаболомного анализа – процедуры интерпретации данных, при которой окончательный набор данных подвергается обработке с использованием информации, полученной из биохимических баз данных.
2. Приоритизация генов, белков, биомаркеров и т.д.
3. Анализ сходства и кластеризация объектов. В качестве примера можно привести анализ уровня экспрессии десятков тысяч генов в различных клеточных ситуациях, при разных состояниях и на различных этапах развития клетки, ткани, органа или организма. После выделения группы генов со схожими паттернами экспрессии (ко-экспрессирующиеся гены) возникает задача описания этих групп. Использование GO позволяет описать, в реализации каких функций участвуют гены, входящие в кластер. По сути, используя онтологии, можно количественно оценивать семантическое сходство объектов предметной области.
4. Поддержка интероперабельности и обмена знаниями: унифицированный доступ ко множествам гетерогенных источников данных; поиск релевантной информации в документах. Онтология в этом случае задает структуру для аннотации содержания документа с семантической информацией, а также обеспечивает индексирование и связывание фактов, описанных в базах данных; интеграция информации из различных источников и создание больших баз знаний; комбинирование экспериментальных данных и знаний из онтологии для формирования баз знаний; интероперабельность, поддержка коммуникации (между людьми и организациями) и обмена знаниями (между людьми и/или системами); анализ текстов и семантический анализ; приобретение знаний, извлечение знаний, неявных и явных отношений между сущностями в аннотированных источниках, аналитика.
5. Создание новых онтологий на основе повторного использования базовых канонических онтологий и различного типа операции с ними, включая сопоставление (matching), слияние (merging), отображение (mapping), выравнивание (alignment) и т.д.
6. Обеспечение непротиворечивости и корректности представления знаний. Поддержка процесса построения онтологий, включая любые типы автоматического вывода для поиска ошибок и выявления новых отношений. Количество понятий и отношений в современных онтологиях исчисляется сотнями тысяч, поэтому ручная проверка невозможна. Эксперт в этом случае проверяет противоречия и результаты, полученные путем формального вывода на онтологиях.
7. Поддержка индуктивного вывода для извлечения дополнительных знаний из множества фактов и тестирование гипотез. Например, подходы к онтологическому моделированию механизмов регуляции транскрипции генов и реконструкция гипотетических механизмов регуляции транскрипции с учетом информации о строении регуляторных районов генов и функциях регуляторных белков, присутствующих в заданных клетках или тканях на определенной стадии развития.
8. Повышение аргументации методов биоинформатики, включая точное описание биомедицинских экспериментальных протоколов, методов анализа данных и моделирования биологических процессов и систем и т.д.

## Участие компонентов сигнальной системы цитокининов в регуляции экспрессии генов фотосинтетических белков в условиях деэтиоляции

Дорошенко А.С., Данилова М.Н.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН. Ботаническая ул., 35, Москва, Россия

Деэтиоляция представляет собой начальный этап фотоморфогенеза, в ходе которого этиопласты, основной тип пластид этиолированных растений, превращаются в хлоропласты. В ходе этого процесса свет инициирует накопление хлорофилла, формирование тилакоидных мембран с фотохимически-активными комплексами и перепрограммирование экспрессии генов. Из литературных данных известно, что экзогенная обработка цитокинином (ЦК) ускоряет процесс деэтиоляции: стимулирует формирование ультраструктуры пластид и накопление фотосинтетических пигментов, а также повышает активность хлоропластных ферментов. В свою очередь, длительное выращивание растений в условиях полной темноты на питательной среде с цитокинином приводит к формированию некоторых признаков, характерных для фотоморфогенеза: укорочению гипокотыля, раскрытию семядолей, образованию настоящих листьев, увеличению размеров пластид и формированию тилакоидных мембран. Цитокининовый сигнал воспринимается и передается при помощи двухкомпонентной системы: гормон связывается с трансмембранными рецепторами АНК2, АНК3 и CRE1/АНК4, после чего сигнал передается через фосфотрансферные белки АНР в ядро на регуляторы ответа типа В (ARR), которые, в свою очередь, регулируют экспрессию ЦК – зависимых генов. Несмотря на понимание механизма восприятия гормонального сигнала, биологическая роль индивидуальных компонентов цитокининового сигналинга в регуляции экспрессии генов хлоропластных белков в процессе деэтиоляции остается неизвестной. Объектом исследования служили проростки дикого типа *A. thaliana* (Columbia-0) и инсерционных нокаут – мутантов по компонентам цепи восприятия (*ahk2*, *ahk3*, *cre1/ahk4*, *ahk2/ahk3*, *ahk2/ahk4*, *ahk3/ahk4*) и передачи (*ahp2/ahp3/ahp5*, *arr1*) цитокининового сигнала. Растения дикого типа и мутантов выращивали на жидкой питательной среде Мурасиге Скуга в течение 3 дней в условиях полной темноты. Среда выращивания опытных растений включала ЦК – *транс*-зеатин (1 мкМ). По истечении трех суток проростки Col-0 и мутантов выносили на свет ( $120 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ ). Растения дикого типа фиксировали в жидком азоте спустя 30 мин, 1, 3, 6 и 12 ч освещения. Мутанты по сигналингу ЦК освещали в течение 6 ч. Контрольным образцом служили проростки Col-0, выращенные в темноте и необработанные гормоном. Анализ содержания транскриптов проводили при помощи метода ПЦР в реальном времени после обратной транскрипции. В качестве референсного гена был выбран *UBQ10*. Анализируемые целевые гены кодируют белки фотосистем I и II (*psaA*, *psbA*), малую и большую субъединицы РБФК (*RBCS1A*, *rbcl*) и свето-собирающего комплекса фотосистемы II (*LHCB2.4*). Для оценки чувствительности модельной системы к экзогенному гормону анализировали экспрессию гена первичного ответа на цитокинин *ARR5*. Этиолированные проростки дикого типа, перенесенные на свет, как и ожидалось, накапливали транскрипты всех исследуемых фотосинтетических генов (*LHCB2.4*, *RBCS1A*, *psaA*, *psbA*) после 3 ч освещения. При этом происходило повышение экспрессии гена *RBCS1A* на протяжении всей экспозиции, в то время как остальные гены характеризовались транзитным профилем экспрессии с максимумом после 3 ч освещения. Эффект *транс*-зеатина на этиолированные проростки подтверждался достоверным укорочением длины гипокотыля и увеличением экспрессии гена *ARR5*. Перенос выращенных в темноте в присутствии ЦК проростков на свет, приводил к достоверному превышению уровня матриц генов *LHCB2.4* и *psaA* после 3 ч деэтиоляции в сравнении со световым контролем. Цитокинин увеличивал уровень транскриптов генов *LHCB2.4*, *RBCS1A*, *psaA* и *psbA* на всех последующих временных точках экспозиции на свету, что согласуется с его способностью ускорять процесс деэтиоляции. Наибольший активирующий эффект ЦК на уровень матриц генов *LHCB2.4*, *RBCS1A*, *psaA* и *psbA* наблюдался после 6 ч экспозиции проростков на свету. Поэтому для дальнейших экспериментов был выбран именно этот временной интервал. Деэтиоляция проростков дикого типа, выращенных на растворе фитогормона, сопровождалась более сильным увеличением уровня транскриптов генов *rbcl*, *RBCS1A*, *psaA* и *psbA* в сравнении со световым контролем. Мутанты *A. thaliana* по рецепции (*ahk2*, *ahk3*, *cre1/ahk4*, *ahk2/ahk3*, *ahk2/ahk4*, *ahk3/ahk4*) и трансдукции цитокининов (*ahp2/ahp3/ahp5*, *arr1*) обладали пониженной способностью к накоплению транскриптов всех исследованных генов, как в присутствии ЦК, так и без него по сравнению с Col-0. Двойные мутанты по рецепторам цитокининов отличались от проростков одинарных мутантов еще большим уменьшением активации исследуемых генов. У мутантов по компонентам трансдукции ЦК сигнала так же проявлялась задержка в ЦК – зависимой деэтиоляции в сравнении с проростками дикого типа. Таким образом, в регуляции экспрессии фотосинтетических генов хлоропластных белков пластидного и ядерного кодирования в процессе деэтиоляции важную роль играют как компоненты восприятия, так и трансдукции сигнала ЦК.

Работа выполнена при поддержке Совета по грантам Президента РФ (грант № МК-1908.2017.4).

## **Влияние 10-(6'-метилпластохинонил) децилтрифенилфосфония (SkQ3) на рост и развитие озимой пшеницы в условиях засухи**

*Дуплий Н.Г.*

Южный Федеральный университет. Большая Садовая, 105, Ростов-на-Дону, Россия  
[duplii@rambler.ru](mailto:duplii@rambler.ru)

Окислительно-восстановительные реакции с участием кислорода являются существенной чертой любого аэробного организма. Одним из важных мест образования свободных радикалов – активных форм кислорода (АФК) – являются митохондрии. Для повышения эффективности препаратов, обладающих антиоксидантной активностью, необходимо обеспечить их направленное накопление в митохондриях. Среди этих антиоксидантов особое место принадлежит субстанции, получившей обозначение SkQ3 (10-(6'-метилпластохинонил) децилтрифенилфосфоний).

В последние годы начаты работы по испытанию митохондриально-направленных антиоксидантов на растениях и растительных тканях.

Ростовская область – один из крупнейших сельскохозяйственных регионов Российской Федерации. Растениеводство – ведущая отрасль АПК (65% валовой продукции сельского хозяйства Дона). Однако, восточные территории Ростовской области – Дубовский, Заветинский, Зимовниковский, Орловский, Пролетарский, Ремонтненский районы относятся к зонам засушливого «рискового» земледелия. Под выращивание всех видов культур используется всего третья часть от общей площади территории. Таким образом, остро стоит проблема эффективного выращивания зерновых культур в зонах засушливого климата. В рамках работы исследуется влияние SKQ3 на рост и развитие сельскохозяйственных культур. Предварительные испытания показали стимулирующее и протекторное воздействие данного вещества на развитие растений в условиях экстремальной засухи, что позволит при подтверждении данного эффекта дальнейшими испытаниями, использовать SKQ3 для расширения географии выращивания зерновых культур.

В 2015-2016 г проводились полевые испытания SKQ3 в различных климатических зонах, в районах с пониженной влажностью, повышенной ветровой нагрузкой, повышенной засоленностью почвы. Дозировки препарата адаптировались к различным сортам и культурам, условиям внешней среды.

Полевые испытания препарата SKQ3 проводились на базе трех сельскохозяйственных предприятий Юга России:

- 1). АО «Бакланниковское» (Семикаракорский р-н, Ростовская область)
- 2). ООО «Солнечное» (Орловский р-н, Ростовская область)
- 3). ОАО «Агрохолдинг Каневской» (Каневской р-н, Краснодарский край)

По данным, полученным в хозяйствах, можно сделать следующие выводы:

- 1). Применение SKQ3 ведет к повышению устойчивости зерновых культур к стрессовым факторам, приводит к повышению урожайности и качества получаемой продукции, повышению устойчивости культурных растений к абиотическим стрессам.
- 2). При предпосевной обработке семян озимой пшеницы SKQ3 повышает полевую всхожесть на 10–12%, увеличивает количество продуктивных стеблей, число зерен в колосе и их массу на 0,6–2,8 грамма, что приводит к повышению урожайности до 30%.
- 3). На озимой пшенице отмечалось, что обработка SKQ3 приводит к повышению устойчивости растений к абиотическим и биотическим факторам, снижению степени полегания на 5–20%.

В целом проведенные испытания подтвердили эффективность SKQ3, а также продемонстрировали удобство и простоту применения: вещество вносится во время традиционной процедуры протравки семян, совместно с применяемыми в сельском хозяйстве растворами протравливателей. Использование препарата не требует специальной подготовки и каких-либо особых мер предосторожности, безопасен для человека и не оказывает негативного влияния на почву.

Таким образом, на сегодняшний день имеются хорошие перспективы применения SKQ3 в сельском хозяйстве РО с точки зрения экономической целесообразности (прежде всего, увеличения урожайности сельскохозяйственных культур). Особенно актуальным будет применение SKQ3 для восточных районов области.



## Аллелопатические взаимодействия между древесными и травянистыми растениями

*Евдокимова Д.П., Ларикова Ю.С., Кондратьев М.Н.*

Российский государственный аграрный университет – Московская сельскохозяйственная академия имени  
К.А.Тимирязева. Тимирязевская ул., 49, Москва, Россия  
[extreeme\\_1994@mail.ru](mailto:extreeme_1994@mail.ru)

Особенно ярко конкурентные взаимоотношения между древесными и травянистыми растениями проявляются на следующих территориях: 1) в лесостепной зоне, 2) в лугово-древесных экосистемах, 3) при одновременном внедрении древесной и травянистой растительности в дичающие агроэкосистемы, 4) в лесопарковых зонах городских экосистем. К настоящему времени достаточно обстоятельно изучен эффект на эти взаимодействия таких факторов, как затенение деревьями травянистого покрова почвы, конкуренция за влагу, элементы минерального питания, несовпадение во времени этапов онтогенеза деревьев и видов травянистой растительности. Работы, посвящённые изучению аллелопатических взаимоотношений между древесными и травянистыми растениями, начались лишь с конца 80-ых годов XX столетия. В своём исследовании мы изучили влияние компонентов листового опада представителей родов *Salix*, *Populus* и *Aesculus* на энергию прорастания, всхожесть семян, сырую и сухую массу, длину гипокотилей и зародышевых корней клевера лугового (*Trifolium pratense*), а также содержание суммарных белков в надземных органах клевера. Комплексное влияние летучих и водорастворимых аллелопатически активных веществ из листового опада определяли в вегетационных опытах в лаборатории искусственного климата РГАУ-МСХА имени К.А.Тимирязева. Для имитации мульчирующего и затеняющего действия листового опада семена контрольного варианта покрывались кусочками фильтровальной бумаги (общий вес покрова равнялся весу подстилки с соответствующей площадью). Учет проросших семян и оценку проростков клевера (*Trifolium pratense*) проводили на 3, 7, 10, 16, 22 и 30 дни. По усилению энергии прорастания семян клевера компонентами опада листьев древесных пород они составили ряд (от большего к меньшему): каштан конский (*Hippocastani folium*) > *Populus tremuloides* > *Salix fragilis*. По увеличению всхожести семян клевера породы составляли ряд: тополь осинообразный > каштан конский. Длина гипокотиля 30-дневных проростков клевера при мульчировании поверхности сосудов листьями *Populus tremuloides* возросла на 20%, в то время как их длина у проросших семян клевера при мульчировании листьями *Salix fragilis* и *Hippocastani folium* увеличивалась на 30-35%. Рост корней 30-дневных проростков при мульчировании листьями *Populus tremuloides* снизился на 5-7%, тогда как водорастворимые компоненты опада листьев *Hippocastani folium* и *Salix fragilis* усиливали их рост на 15-20%. Следует отметить, что негативный эффект водорастворимых компонентов мульчи из листьев на накопление сухой массы проростками клевера отмечался только при мульчировании листьями *Populus tremuloides*. Компоненты мульчи листьями *Hippocastani folium* и *Salix fragilis* усиливали накопление сухой массы проростками клевера в 3-3,5 раза. Использование в исследовании двух контролей (без мульчирования и мульчирование бумагой) показало, что эффект затенения отражался на физиологических параметрах проростков клевера в большей степени, чем действие водорастворимых компонентов листьев древесных пород, что позволяет заключить о наличии низкой концентрации аллелопатически активных соединений, обладающих ингибиторным действием, в листовом опаде изученных древесных пород. Следовательно, описываемые в научной литературе негативные эффекты взаимодействия древесных растений и травянистой растительности, не всегда связаны с наличием (или присутствием в небольших количествах) в опаде веществ ингибиторного характера.

## Влияние ризобактерий *Paenibacillus polymyxa* на функциональную активность клеток корневых меристем пшеницы

Егоренкова И.В., Трегубова К.В., Красов А.И., Евсеева Н.В., Маторя Л.Ю.

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН. Пр. Энтузиастов, 13, Саратов, Россия  
[egorenkova\\_i@ibppm.ru](mailto:egorenkova_i@ibppm.ru)

*Paenibacillus polymyxa* относят к группе ростстимулирующих ризобактерий (PGPR) с широким диапазоном растений-хозяев. Многочисленны данные по положительному влиянию инокуляции данными бактериями на урожай основных зерновых культур: пшеницы, ячменя, риса, сорго, проса и кукурузы. *P. polymyxa* известны своей способностью к фиксации атмосферного азота, к трансформации труднодоступных фосфатов, к синтезу фитогормонов, широкого спектра антибиотиков, литических ферментов, а также нейтральных и кислых экзополисахаридов (ЭПС). ЭПС данных бактерий отводится существенная роль в растительно-микробных взаимодействиях. *P. polymyxa* обнаружены в различных климатических зонах и экологических нишах; они активно колонизируют корни и формируют биопленки. Известно, что результатом образования растительно-микробных ассоциаций является стимуляция митотической активности клеток корневых меристем растительного партнера.

Цель данного исследования – оценка физиолого-морфологических изменений в проростках пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Саратовская 29 под воздействием бактерий *P. polymyxa* ССМ 1459<sup>T</sup> и 88А и их ЭПС. *P. polymyxa* 88А – мутантный штамм (продуцент высоковязкого ЭПС), полученный нами кратковременным облучением мощным микроволновым излучением с частотой 2375 Мгц из типового штамма *P. polymyxa* ССМ 1459<sup>T</sup>.

Семена пшеницы стерилизовали диацидом, проращивали без освещения 3 суток при 25°C, затем обрабатывали водными растворами ЭПС (0.2 мг/мл) или живыми клетками *P. polymyxa* (10<sup>8</sup> кл/мл) и выращивали в оранжерее в контролируемых условиях (24°C, влажность воздуха – 60%, освещенность – 60 мкмоль/м<sup>2</sup>·с) в течение 2 суток. Выделяли и использовали препараты ЭПС, синтезируемых *P. polymyxa* на жидких питательных средах с глюкозой (ЭПСгл) или сахарозой (ЭПСсах) в качестве источника углерода. ЭПСгл и ЭПСсах штаммов ССМ 1459<sup>T</sup> и 88А – нерегулярные, гетерогенные по молекулярной массе и заряду полисахариды, содержащие маннозу, глюкозу, галактозу и уроновые кислоты, соотношение которых зависит от состава среды культивирования. В ЭПСгл доминируют кислые фракции, в ЭПСсах – нейтральные.

Анализ морфометрических показателей 6-суточных проростков выявил ростстимулирующую активность анализируемых штаммов *P. polymyxa* и их ЭПС в отношении проростков пшеницы, что проявилось в увеличении длины и сухой массы побегов. Обработка экзополисахаридами и бактериями штамма ССМ 1459<sup>T</sup> приводила к увеличению длины и массы побегов в среднем на 13% и 11%, соответственно, по сравнению с контрольными растениями. ЭПСгл и ЭПСсах способствовали также росту сухой массы корней в среднем на 26%, однако, возрастания их длины не наблюдалось. Причиной прироста массы, вероятно, служило формирование боковых корней и появление многочисленных разветвлений. Для *P. polymyxa* 88А предобработка препаратами ЭПСгл, ЭПСсах и бактериями способствовала росту длины побегов на 17%, 6% и 21%, соответственно, а сухой массы – на 11%, 7% и 16%, по сравнению с контролем. Зафиксировано незначительное стимулирующее влияние на сухую массу корней только в варианте с обработкой ЭПСгл.

Функциональная активность клеток корневых меристем пшеницы оценивалась по показателям их митотического индекса (МИ). Значение МИ может свидетельствовать о нормальном протекании митоза, об угнетении процесса деления клеток или, напротив, усилении митотической активности клеток апикальных меристем. Для подсчета МИ кончики корней проростков (2-3 мм) фиксировали в смеси уксусной кислоты с этанолом. Материал окрашивали в ацетогематоксилине, затем кончики корней мацерировали с использованием фермента цитазы. Препараты просматривали при 600-кратном увеличении с помощью микроскопа Leica DM 2500 (Германия) на базе ЦКП «Симбиоз» ИБФРМ РАН и подсчитывали процент делящихся клеток. Обработка проростков бактериями *P. polymyxa* или их ЭПС не оказала существенного влияния на МИ клеток корней пшеницы, значения которого для штамма ССМ 1459<sup>T</sup> составили 5.0-5.8% при контрольных показателях – 5.4%, для штамма 88А – 4.5-5.9% при контрольных значениях – 5.7%.

Совокупность полученных результатов свидетельствует о том, что штаммы *P. polymyxa* ССМ 1459<sup>T</sup> и 88А проявили меньшую активность в отношении проростков пшеницы по сравнению со штаммом *P. polymyxa* 92, выделенным из корней пшеницы, который стимулировал развитие корневой системы и побегов, а также способствовал существенному повышению МИ. Согласно полученным нами ранее данным для штамма 92, МИ клеток корней пшеницы возрастал примерно в 1.6 раза при инокуляции проростков бактериями и в 2.8 раза – при обработке ЭПС (по сравнению с контролем).

Таким образом, актуальной задачей остается поиск и подбор штаммов *P. polymyxa*, способных вызывать наибольший положительный ответ со стороны растений, с которыми они взаимодействуют.

**Изучение иммунного ответа в модели мха *Physcomitrella patens* – фитопатогенные бактерии****Егорова Е.Д., Бараева Н.А., Виноградова С.В.**Институт биоинженерии, ФИЦ Биотехнологии РАН, Ленинский пр-т, 33, к. 2, Москва, Россия  
[svetlana.vinogradova@biengi.ac.ru](mailto:svetlana.vinogradova@biengi.ac.ru)

В процессе эволюции у растений выработались разнообразные защитные реакции на воздействие патогенов. В последнее десятилетие были получены важные результаты в изучении системной устойчивости цветковых растений и обнаружены гены специфической устойчивости к бактериям, грибам и вирусам, а также изучены механизмы узнавания патогена и активации ответных реакций. Однако, по сравнению с цветковыми растениями, об иммунной системе мхов известно сравнительно немного. Ранее было показано, что некротрофные патогены способны заражать *Physcomitrella patens* и активировать защитные механизмы, в том числе вызывать модификации клеточной стенки, накопление активных форм кислорода (АФК), запрограммированную гибель клеток, индуцировать экспрессию защитных генов и синтез вторичных метаболитов и защитных гормонов. Сообщения о взаимодействии мха и биотрофных патогенов, то есть взаимодействующих с живыми клетками растений, отсутствуют.

Для проведения исследования использовали гаметофоры *P. patens* и инокулировали их суспензиями *Pseudomonas viridiflava*, *Pseudomonas syringae* и *Xanthomonas arboricola*. В контрольных образцах симптомы патогенеза отсутствовали. Наибольшие фенотипические (пожелтение, уменьшение размера колоний, отставание в росте) и цитологические (деформация клеток, уменьшение количества и размера хлоропластов, коагуляция цитоплазмы) изменения по сравнению с контролем были отмечены при инокуляции *P. patens* бактерией *P. viridiflava*. Полную гибель гаметофоров детектировали на 10-ый день. Гибель клеток подтверждали гистохимическим окрашиванием красителем Эванс синий. Патогенность изучаемых бактерий подтвердили в соответствии с постулатами Коха.

Детектирование активных форм кислорода, образующихся в ответ на инвазию патогена, проводили с использованием 2',7'-дихлорфлуоресцеина диацетата. Инфицирование бактериями *P. viridiflava*, *P. syringae* и *X. arboricola* приводило к увеличению синтеза АФК по сравнению с контролем и способствовало механическому укреплению клеточной стенки за счет отложения каллозы. Образование каллозы анализировали окрашиванием анилиновым голубым. Максимальное накопление каллозы было отмечено в клетках мха, зараженных бактерией *P. viridiflava*, на второй день после инокуляции.

Накопление АФК может влиять на работу фотосистемы II, активность которой анализировали методом измерения замедленной флуоресценции. Было отмечено, что инокуляция *P. patens* бактерией *P. viridiflava* приводит к статистически достоверному снижению фотохимической активности.

Методами газовой хроматографии и масс-спектрометрии анализировали накопление вторичных метаболитов после инокуляции *P. patens* бактериями. В результате было обнаружено 60 метаболитов, преимущественно принадлежащих к компонентам углеводного обмена, а также к жирным и карбоновым кислотам, присутствующим в составе мембранных липидов и триацилглицеринов, регулирующих проницаемость клеточных мембран. На ранних этапах патогенеза детектировали накопление арахидоновой кислоты, которая интенсифицирует синтез защитных соединений при инокуляции штаммом *P. syringae*. В образцах гаметофоров, инокулированных бактериями, по сравнению с контролем было отмечено накопление соединений, участвующих в системной устойчивости растений, таких как кампастерол и стигмастерол, а также стрессового метаболита пролина, выполняющего антиоксидантную и сигнально-регуляторную функции, а также уменьшающего содержание АФК. Мы также отметили накопление токоферола в зараженных образцах, который выступает протектором клеточных мембран от окислительного повреждения. С помощью трансмиссионной электронной микроскопии в образцах, инокулированных *P. viridiflava*, отмечали утолщение первичной клеточной стенки, уменьшение размера срединной пластинки и количества крахмальных зерен, а также увеличение пластоглобул и нарушение формы и структуры пластид, что подтверждается метаболомными данными.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что изученные нами штаммы бактерий *P. viridiflava*, *P. syringae* и *X. arboricola* являются патогенами *P. patens* и приводят к развитию инфекционного процесса. В ответ на патогенез *P. patens* активирует защитные механизмы, схожие с защитными механизмами цветковых растений: синтезируются активные формы кислорода, фенольные соединения, происходит накопление каллозы, а также вторичных метаболитов, участвующих в регуляции клеточных мембран и способствующих усилению синтеза защитных веществ в растении. Для изучения различий в экспрессии генома мха при инокуляции патогенными бактериями нами был получен транскриптом *P. patens* на 5 день после инокуляции, проведена первичная обработка данных, проводится анализ дифференциальной экспрессии генов.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 13-04-40104 и Гранта Президента РФ МК-7138.2015.4 на базе ЭУИК (U-73547).

## Клеточная селекция клевера ползучего на устойчивость к ионам меди

*Ермошин А.А., Киселева И.С.*

Уральский федеральный университет, Ленина, 51, Екатеринбург, Россия  
[Alexamder.Ermoshin@urfu.ru](mailto:Alexamder.Ermoshin@urfu.ru)

Загрязнение среды тяжелыми металлами (ТМ) – один из наиболее распространенных типов антропогенных воздействий на природные экосистемы. В Уральском регионе одним из наиболее значимых поллютантов почв и водоемов являются ионы меди, которая добывается и перерабатывается на данной территории в течение нескольких столетий. Ионы меди высоко токсичны для всех живых организмов, поэтому получение линий растений, устойчивых к высоким дозам этого поллютанта, является важной задачей как для понимания и изучения механизмов устойчивости растений к ТМ, так и создания форм, которые позволят вернуть в оборот загрязнённые почвы.

Для работы в качестве объекта был выбран клевер ползучий (*Trifolium repens* L.), потому что это космополитный вид, который используется как комоное, медоносное, седекатное и газонное растение. На первом этапе работы были определены токсичные и летальные дозы ионов меди для проростков клевера. На основании этих данных были отобраны для дальнейшей селекционной работы следующие концентрации ионов меди – 50 мкМ (не оказывает заметного токсического влияния на проростки), 100, 200 и 300 мкМ (значительно угнетает рост проростков) и 500 мкМ (обработка ионами меди в данной концентрации позволяла выжить только единичным растениям).

Далее проведена ступенчатая клеточная селекция. Из семядольных листьев клевера был получен первичный каллус на среде МС с 3% сахарозы, 1 мг/л БАП и 1 мг/л НУК. Полученный каллус пассивировали каждые 3 недели на среды с возрастающей концентрацией ионов меди. Через 4 пассажа был получен каллус, стабильно растущий на 200 и 300 мкМ ионов меди в среде, в то время как при непосредственном переносе семядольных листьев на среду с этими концентрациями ионов меди клетки гибли. Полученные устойчивые клеточные линии переносили на среды для регенерации, рекомендованные для каллусов клевера, однако полученные клеточные линии потеряли морфогенную способность при ступенчатой селекции в течении 4 пассажей и регенерировать целые растения не удалось.

Для получения растений-регенерантов, устойчивых к высоким дозам ионов меди, был опробован другой подход. В качестве источника первичного каллуса использовали не семядольные листья, а стерильные семена, высаженные непосредственно на среду для каллусогенеза. В среду сразу были добавлены 200 мкМ ионов меди. В этом случае выживали и давали каллус только устойчивые клеточные варианты. На среде с ионами меди прорастало 38 % семян, тогда как на среде без меди - 72 % (контроль). Из проросших семян на среде с медью активно растущий каллус давали 22 % против 85 % в контроле. Таим образом было получено несколько десятков первичных каллусов, которые были пассивированы на среду того же состава. Вторичный каллус был перенесен на среду для регенерации с добавлением 200 мкМ ионов меди. После ряда предварительных экспериментов для регенерации была выбрана среда МС с 3 % сахарозы и 2 мг/л БАП. Полученные первичные регенеранты, растущие на среде с ионами меди, пассивировали на среду того же состава, но без фитогормонов. Через месяц отбирали растения с нормальной морфологией побега и развитыми корнями. Полученные растения расчленовали на среду МС без фитогормонов и ионов меди, чтобы предотвратить действие эпигенетических факторов. Было получено более 10 линий клевера ползучего, предположительно устойчивого к 200 мкМ ионов меди в среде. Растения готовы для пересадки в грунт и испытания антиоксидантных реакций в ответ на действие ионов меди, выявления способности к её накоплению, а также определения перекрестной устойчивости полученных форм к другим стрессорам.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 15-04-08380 А) и программы 211 Правительства Российской Федерации, соглашение № 02.А03.21.0006.

## Обмен жирных кислот и процессы свободнорадикального окисления в митохондриях растений в условиях гипоксии и действия фитогормонов

*Ершова А.Н.*

Воронежский государственный педагогический университет, ул. Ленина, 86, Воронеж, Россия  
[aershova@vspu.ac.ru](mailto:aershova@vspu.ac.ru)

Одним из механизмов адаптации растений к стрессам, включая и гипоксию, является способность мембран сохранять свои свойства. Как известно, наиболее чувствительной частью растительной клетки являются митохондрии, поэтому изменения состояния их мембран относят к одному из механизмов «срочной» адаптации растений. Отмечено, что высокие концентрации  $\text{CO}_2$  способны активно влиять на процессы пероксидации липидов в клетках растений, включая и митохондрии (Ершова и др., 1996-2014). Однако остаются неясными пути и механизмы образования АФК в митохондриях растений в условиях гипоксического стресса. При этом интересным является и вопрос о роли фитогормонов в регуляции свободнорадикальных процессов в данных органеллах в клетках растений при дефиците кислорода и в  $\text{CO}_2$ -среде. Исследовали влияние условий кратковременной (3-24 час.) гипоксии и среды высоких концентраций диоксида углерода на жирнокислотный состав фосфолипидов мембран, обмен свободных жирных кислот, скорость процессов свободнорадикального окисления в митохондриях проростков кукурузы, а также влияние фитогормонов кинетина и эпибрасинолида на эти процессы. Митохондрии выделяли методом дифференциального центрифугирования, чистоту фракций определяли по маркерным ферментам цитохром-с-оксидазе и СДГ. Выделение общих липидов проводили общепринятыми методами. Разделение липидов на классы и проводили методом тонкослойной хроматографии на силикагеле. Выделенные фосфолипиды подвергали метанолизу, свободные жирные кислоты метилировали с помощью диазометана и анализировали методом газожидкостной хроматографии. Содержание пероксида водорода в митохондриях определяли энзиматическим путем, супероксидных анион-радикалов, активность ферментов липоксигеназы – спектрофотометрически, скорость свободнорадикального окисления оценивали методом железо-индуцированной хемилюминесценции.

Было обнаружено, что в условиях кислородной недостаточности, в фосфолипидах митохондрий проростков кукурузы изменялось содержание, но не качественный состав жирных кислот. Снижалось содержание пальмитиновой и линолевой кислот, содержание же миристиновой и стеариновой кислот, наоборот, возрастало. Это приводило к постепенному снижению величины соотношения ненасыщенные/насыщенные жирные кислот в фосфолипидах мембран митохондрий проростков с 0,65 до 0,30 через 24 часа гипоксии и с 0,56 до 0,32 при действии среды диоксида углерода. При этом содержание основной ненасыщенной жирной кислоты фосфолипидов митохондрий линолеата снижалось более значительно при действии среды диоксида углерода, чем при гипоксии. Однако в первые часы опыта могло наблюдаться некоторое увеличение содержания линолевой кислоты. Среди свободных жирных кислот, которые являются высокоэффективными регуляторами структурного состояния и фосфорилирующей активности митохондрий, присутствовали те же жирные кислоты, что и в составе фосфолипидов митохондриальных мембран. При гипоксии увеличивалось содержание ненасыщенных свободных жирных кислот - пальмитолеиновой и линолевой. В большей степени это увеличение характерно для проростков, находившихся в среде  $\text{CO}_2$ . Обработка кинетином препятствовала подобным изменениям в жирнокислотном составе фосфолипидов мембран митохондрий проростков в стрессовых условиях (недостаток кислорода и избыток  $\text{CO}_2$ ). После 3-6 часов действия гипоксии и среды высоких концентраций диоксида углерода в митохондриях среднеустойчивых растений кукурузы повышалась на 20-50% скорость свободнорадикального окисления. Отмечалось накопление супероксидного анион-радикала при гипоксии на 30%. Увеличение содержания пероксида водорода происходило уже в первые 3 часа действия газовых сред, однако к концу опыта его количество могло снижаться. Активность фермента липоксигеназы, участвующего в окислении жирных кислот не только свободных, но и связанных в фосфолипидах мембран, существенно повышалась в митохондриях проростков при действии гипоксического стресса и  $\text{CO}_2$ -среды. Обработка растений фитогормонами кинетином и эпибрасинолидом снижало скорость свободнорадикальных процессов в митохондриях и накопления отдельных типов АФК при гипоксии. Полученные данные показывают, что у растений в условиях дефицита кислорода снижается степень ненасыщенности фосфолипидов мембран митохондрий за счет усиления скорости процессов свободнорадикального окисления, что раньше только предполагалось. Впервые установлена важная роль липоксигеназного пути в процессах образование АФК в митохондриях растений в условиях дефицита кислорода в первые часы действия гипоксии. Отмечено, что высокие концентрации  $\text{CO}_2$  усиливали эффекты гипоксии на обмен жирных кислот, образование АФК и активность липоксигеназы в митохондриях. Показано, что механизм защитного действия фитогормонов кинетина и эпибрасинолида в условиях гипоксии и высоких концентраций диоксида углерода может быть обусловлен их способностью подавлять активность липоксигеназы и процессы свободнорадикального окисления в митохондриях растений, что способствует стабилизации фосфолипидных компонентов мембран и следовательно обеспечивает нормальное функционирование митохондрий в клетках растений в стрессовых условиях.

**Сукцинатдегидрогеназа и образование АФК в митохондриях растений при гипоксии и высоких концентрациях диоксида углерода***Ершова А.Н., Бердникова О.С., Чеботова Л.В.*Воронежский государственный педагогический университет, ул.Ленина, 86, Воронеж, Россия  
[aershova@vspsu.ac.ru](mailto:aershova@vspsu.ac.ru)

Растения на разных этапах развития подвергаются воздействию различных неблагоприятных факторов внешней среды. Одним из стрессоров, оказывающих влияние на развитие растений, является дефицит кислорода (гипоксия), вызванный избыточным переувлажнением или затоплением почв. Уменьшение же содержания кислорода обычно сопровождается накоплением диоксида углерода в среде, который может активно влиять на обменные процессы растений как на уровне мембран, так и на уровне ферментов (Ершова и др., 1996-2011). Отмечено, что при дефиците кислорода в клетках растений усиливаются процессы перекисного окисления липидов в результате активации свободнорадикальных процессов. Митохондрии являются наиболее чувствительной частью растительной клетки, которые участвуют в энергетическом обмене и из-за сбоя работы ЭТЦ-дыхания в них могут продуцироваться различные формы АФК, содержание которых может возрастать при различных стрессовых условиях, включая дефицит кислорода (гипоксия). Сукцинатдегидрогеназа митохондрий (СДГ) включена в работу цикла Кребса, активность ферментов которого так же определяется присутствием кислорода. При этом обнаружено, что увеличение содержания сукцината может усиливать процессы перекисного окисления липидов и накопление гидропероксидов в митохондриях растений. Исследовали влияния кратковременной (3-24 час.) гипоксии и  $\text{CO}_2$ -среды на активность сукцинатдегидрогеназы и скорость свободнорадикального окисления, включая образование разных типов АФК и активность ферментов липоксигеназного пути, в митохондриях проростков кукурузы.

Митохондрии выделяли методом дифференциального центрифугирования и чистоту фракций контролировали по маркерным ферментам и хлорофиллу. Активность СДГ определяли в реакции ферментативного окисления сукцината и рассчитывали с учетом коэффициента экстинкции. Содержание пероксида водорода в митохондриях определяли энзиматическим путем, супероксидных анион-радикалов, активность липоксигеназы – спектрофотометрически, скорость свободнорадикального окисления оценивали методом железо-индуцированной хемилюминесценции. Содержание всех типов АФК и активность ферментов рассчитывали на мг белка, который определяли методом Лоури. Было показано, что у среднеустойчивых проростков кукурузы активность фермента сукцинатдегидрогеназы в первые три часа действия гипоксии оставалась на уровне контрольных растений, и только затем начинала падать, что способствовало накоплению сукцината в митохондриях. В условиях  $\text{CO}_2$  – среды активность митохондриальной СДГ изменялась более значительно, что также отражалось на содержании этой органической кислоты. В то же время интенсивность процессов свободнорадикального окисления в митохондриях проростков кукурузы в условиях гипоксии возрастала в первые 3-6 час опыта (в 1,9 раз), а к концу экспозиции растений в разных газовых средах она снижалась на 15-34%. В этот период отмечалась и увеличение содержания пероксида водорода до 135% от уровня аэрируемых растений. Содержания же супероксидных анион-радикалов в митохондриях проростков возрастало на 30 % в последние часы опыта. Одним из ферментов, участвующим в накоплении активных форм кислорода (АФК) в клетках растений, является липоксигеназа. В митохондриях проростков кукурузы была обнаружена липоксигеназа, активность которой повышалась в условиях гипоксии на 15 %, а при действии  $\text{CO}_2$  – среды на 31 % от уровня контрольных аэрируемых растений. Введение специфических ингибиторов липоксигеназы SHAM и пропилгаллата блокировало повышение активности липоксигеназы в два раза в условиях гипоксии и в четыре раза при действии среды высоких концентраций диоксида углерода.

Проведенные исследования показали возможность накопления значительного количества супероксидных анион-радикалов и пероксида водорода в митохондриях растений в условиях кратковременной гипоксии. Впервые установлена важная роль липоксигеназного пути в процессах образования АФК в митохондриях растений в условиях дефицита кислорода. Это подтверждалось не только увеличением активности липоксигеназы, но и применением специфических ингибиторов. Одновременно отмечалось и более значительное падение активности митохондриальной СДГ у растений в условиях гипоксического стресса, что способствовало повышению содержания в них сукцината. Полученные нами данные подтверждают, что накопление сукцината в митохондриях растений, находящихся в условиях дефицита кислорода, сопровождается усилением процессов перекисидации липидов и накоплением АФК. Отмечено, что действие высоких концентраций диоксида углерода на растения было на отдельных этапах более эффективным, чем условия обычной гипоксии, как в отношении образования разных типов АФК в митохондриях растений, так и активности фермента сукцинатдегидрогеназы.

**Устойчивость растений *Solanum tuberosum* к хлоридному засолению**

**Ефимова М.В., Бойко Е.В., Коломейчук Л.В., Малофий М.К., Видершпан А.Н., Плюснин И.Н., Мурган О.К., Головацкая И.Ф.**

Национальный исследовательский Томский государственный университет пр. Ленина, 36, Россия, Томск  
[stevmv555@gmail.com](mailto:stevmv555@gmail.com)

Засоление почв является проблемой мирового масштаба. По данным Российской академии наук, общая площадь засоленных почв в РФ составляет около 40 млн га, при этом площадь пахотных засоленных почв достигает 10-15 млн га. Негативное воздействие соли приводит к возникновению в почве низкого водного потенциала, что затрудняет поступление воды в растение. Наиболее распространенным и токсичным является хлоридное засоление. Повреждающее влияние высокой концентрации солей связано с нарушением мембранных структур, в частности плазмалеммы, вследствие чего возрастает ее проницаемость, теряется способность к избирательному накоплению веществ. В этом случае соли поступают в клетку пассивно, что значительно усиливает повреждение клетки.

В настоящее время картофелеводство является приоритетным направлением фундаментальных и поисковых научных исследований в области сельского хозяйства в соответствии с постановлением президента Российской Федерации.

Нами проводилась оценка устойчивости растений *Solanum tuberosum* среднеспелого сорта Луговской к действию NaCl в диапазоне концентраций 50–150 мМ. Оздоровленные растения-регенеранты картофеля *in vitro* получали методом апикальной меристемы. Микрклоны в возрасте 30 суток переносили на жидкую ½ питательную среду Мурасиге и Скуга (½ МС) под люминесцентные лампы L36W/77 Fluora («Osram», Германия) при плотности потока квантов ФАР 200–250 мкмоль/(м<sup>2</sup>/с) в фитотрон с 16-часовым фотопериодом и температурой 20 ± 3°C. Предварительно корни растений отмывали от агаризованной питательной среды и проводили недельную адаптацию растений к жидкой среде ½ МС и условиям воздушной среды. После двухнедельного выращивания растений на гидропонной установке в среде ½ МС 7-недельные растения помещали на среду ½ МС (контрольный вариант) и ½ МС, содержащую NaCl (опытные варианты). Замену питательной среды в условиях гидропоники проводили каждые 3,5 суток.

Степень устойчивости растений *S. tuberosum* оценивали по ростовым и физиологическим показателям (содержание фотосинтетических пигментов, осмотический потенциал клеточного сока, накопление ионов натрия, калия и кальция в надземных и подземных органах растений, степень перекисного окисления липидов, активность антиоксидантных ферментов).

Растения проявили высокую чувствительность к хлоридному засолению. Негативный эффект на ростовые и физиологические показатели растений проявлялся при самой низкой из анализируемых концентраций 50 мМ NaCl. В первую очередь, повреждался фотосинтетический аппарат растений – уменьшалась суммарная листовая поверхность и содержание фотосинтетических пигментов, количество столонов сокращалось. Величина осмотического потенциала клеточного экссудата листьев снижалась в два раза. Баланс неорганических ионов сдвигался. Интенсивность ПОЛ определялась органоспецифичностью. Максимальный уровень МДА отмечен в листьях вне зависимости от наличия или отсутствия в среде выращивания NaCl. При действии 150 мМ NaCl уровень МДА в листьях растений повышался на 23%, что свидетельствует о развитии окислительного стресса. Более низкие концентрации NaCl не увеличивали интенсивность перекисного окисления липидов. Скорее всего, это было обусловлено повышенным синтезом пролина и антиоксидантных ферментов.

Таким образом, нами показано, что в диапазоне концентраций NaCl от 50 до 125 мМ растения стремились максимально активизировать защитные системы для борьбы со стрессором. Критическая концентрация 150 мМ приводила к необратимым повреждениям на разных уровнях организации. Вместе с тем, растениям удавалось «контролировать» интенсивность окислительного стресса при слабом и умеренном засолении за счет накопления пролина и антиоксидантных ферментов.

Исследование было поддержано грантом РФФИ № 17-54-61016-Египет\_a.

**Устойчивость к действию ионов меди среднеспелых сортов *Solanum tuberosum* L.****Ефимова М.В., Бойко Е.В., Коломейчук Л.В., Видершпан А.Н., Малофий М.К., Плюснин И.Н., Мурган О.К.**Национальный исследовательский Томский государственный университет пр. Ленина, 36, Россия, Томск  
[stevmv555@gmail.com](mailto:stevmv555@gmail.com)

Оценивали устойчивость растений *Solanum tuberosum* двух среднеспелых сортов Луговской и Накра к действию ионов меди в широком диапазоне концентраций. Оздоровленные растения-регенеранты картофеля *in vitro* получали методом оздоровления меристемы. Полученные растения в возрасте 30 суток переносили на жидкую питательную среду Мурасиге и Скуга с половинным составом макро- и микроэлементов (1/2 МС). После двухнедельного выращивания растения переносили на 1/2 МС, содержащую  $\text{CuSO}_4$  в диапазоне концентраций 25-200 мкМ (опытные варианты) или на среду 1/2 МС (контрольный вариант). Степень резистентности растений *S. tuberosum* определяли по ростовым и физиологическим показателям. Учитывали накопление сырой и сухой биомассы надземной и подземной частей растений, линейные размеры побега и корня, площадь листовой поверхности, количество столонов, содержание фотосинтетических пигментов, накопление ионов меди, калия и кальция в надземных и подземных частях растений, определяли способность к избирательному транспорту ионов, водный статус растений, интенсивность осмотического и окислительного стрессов.

В отсутствие действия стрессора ростовые показатели растений картофеля сорта Луговской превышали аналогичные параметры растений сорта Накра. Длина надземных и подземных органов – стебля и корня была на 27 % выше, количество столонов – на 34 %. Высокую чувствительность к действию самой низкой из анализируемых концентраций  $\text{CuSO}_4$  – 25 мкМ проявляли растения картофеля сорта Луговской. Интенсивность роста побега снижалась на 20 %, количество столонов и суммарная площадь листьев уменьшались на 40 %. Аналогичная концентрация ионов меди у растений картофеля другого сорта вызывала только подавление роста листьев. С увеличением концентрации ионов меди негативный эффект усиливался. Число столонов при концентрации  $\text{CuSO}_4$  200 мкМ снижалось примерно в восемь у растений картофеля сорта Луговской и в два раза – у растений сорта Накра. Площадь листьев при данной концентрации ионов меди вне зависимости от генотипа растений *S. tuberosum* уменьшалась примерно в 6 раз. Все ростовые параметры растений картофеля сортов Луговской и Накра, за исключением количества столонов, при самой высокой из анализируемых концентраций  $\text{CuSO}_4$  были сходными. Содержание фотосинтетических пигментов (хлорофилла а, b и каротиноидов) в стрессовых условиях в листьях растений сорта Луговской почти не изменялось. Концентрация пигментов в листьях растений сорта Накра снизилась в 1.5-2 раза при высокой концентрации (от 100 мкМ) ионов меди в питательной среде. Перекисное окисление липидов, свидетельствующее о развитии окислительного стресса, усиливалось в надземной части растений картофеля при 100 мкМ  $\text{CuSO}_4$ . Корневая система картофеля сорта Накра проявляла высокую чувствительность к действию  $\text{CuSO}_4$  в концентрации 25 мкМ; перекисное окисление усиливалось в 2 раза. Содержание одного из антиоксидантов неферментативной природы – иминокислоты пролина определялось генотипом растений, органоспецифичностью и концентрацией ионов меди в растворе. Самый высокий уровень пролина отмечен в стеблях растений в диапазоне концентраций  $\text{CuSO}_4$  50-200 мкМ.

Накопление ионов меди в растениях было органоспецифичным; в контрольных условиях концентрация меди в корнях в два раза превышала аналогичный показатель в побегах. При концентрации  $\text{CuSO}_4$  в среде 25 мкМ содержание ионов в растениях зависело от анализируемого сорта картофеля. Максимальное накопление ионов меди при самой низкой из анализируемых концентраций  $\text{CuSO}_4$  (25 мкМ) наблюдалось в растениях картофеля сорта Луговской. В надземной части содержание ионов меди по сравнению с контрольным вариантом увеличивалось в 9 раз, в корнях – в 100 раз. В аналогичных условиях концентрация ионов меди в надземной части картофеля сорта Накра увеличивалась в 4 раза, в корнях – в 66 раз.

Таким образом, нами впервые показаны генотипические особенности устойчивости микроклонов среднеспелых сортов к широкому диапазону концентраций ионов меди.

Исследование было поддержано грантом Российского научного фонда № 16-16-04057.



**Возможные механизмы снижения генерации АФК митохондриями растений в условиях стресса***Жигачева И.В.*

ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 119334 г. Москва, ул Косыгина, 4, Россия  
[zhigacheva@mail.ru](mailto:zhigacheva@mail.ru)

Митохондрии, являясь одним из регуляторов энергетического обмена, играют одну из основных ролей в ответе организма на действие стрессовых факторов. Около 1-3% потребляемого митохондриями кислорода в результате 1-2 -электронного восстановления образует активные формы кислорода (АФК), которые участвуют в клеточной редокс-сигнализации. В норме стационарный уровень АФК в органах и тканях весьма низок (порядка  $10^{-10}$  -  $10^{-11}$  М) за счет наличия в них ферментативной и неферментативной систем регуляции накопления и устранения АФК. Смещение антиоксидантно - прооксидантного равновесия в сторону увеличения продукции АФК митохондриями происходит под действием стрессовых факторов и лежит в основе нарушения физиологических функций растительных организмов (снижения ростовых процессов, урожайности и т.д.) [Tailor N.L. et al., 2003]. Таким образом, митохондрии являются как источником так и мишенью АФК. Взаимодействие АФК с полиненасыщенными жирными кислотами, входящими в состав липидов мембран, связано с активацией перекисного окисления липидов (ПОЛ). Образование в результате ПОЛ гидрофильных продуктов окисления изменяет структуру липидного бислоя мембран в гидрофобных участках. При этом создаются условия для пассивного транспорта ионов и метаболитов и, тем самым в известной степени (в зависимости от интенсивности окислительного процесса), нарушается координация и специфичность мембранных процессов [Чиркова Т.В., 1977]. Кроме того, в результате ПОЛ образуются токсические для клеток растений и животных продукты: альдегиды и 4-гидрокси-2,3-ноненали. Эти токсиканты ингибируют ферменты, вовлеченные в основные метаболические пути: одни из них – в фотодыхание (у растений), другие – в цикл трикарбоновых кислот, что влияет на транспорт электронов в дыхательной цепи митохондрий за счет истощения пула NADH в матриксе митохондрий [Tailor N.L. et al, 2003]. Адаптация растений к изменяющимся факторам внешней среды направлена, в первую очередь на снижение генерации АФК митохондриями и хлоропластами. В своем сообщении я обращаю внимание главным образом на митохондрии, т.к. эти органеллы и у растений и у животных играют существенную роль в адаптивных реакциях организма. Снижение генерации АФК митохондриями может быть достигнуто за счет повышения активности антиоксидантной системы. Однако, существуют и другие способы снижения образования АФК. В связи с этим в сообщении будет обсуждаться проблема защиты растительной клетки от окислительного стресса и возможные механизмы снижения генерации активных форм кислорода (АФК) митохондриями растений в этих условиях

## От чего зависит скорость роста корня на клеточном уровне?

Жуковская Н.В., Быстрова Е.И., Иванов В.Б.

ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН. Ботаническая ул., 35, Москва, Россия  
[nataliazhukovskaya@mail.ru](mailto:nataliazhukovskaya@mail.ru), [ivanov\\_vb@mail.ru](mailto:ivanov_vb@mail.ru)

Скорость роста корней проростков разных видов и корней разных порядков в одной корневой системе заметно различается. Однако, до сих пор почти не изучено, чем обусловлены различия в протекании отдельных процессов роста и деления клеток в разных сравниваемых корнях. В докладе будут обсуждаться данные, полученные при изучении корней проростков 35 однодольных и 63 двудольных видов и придаточных корней из луковиц и корневищ 24 однодольных. Изученные объекты были из разных семейств и отличались по весу семени и гаплоидному содержанию ДНК. Для каждого вида измерялись: скорость роста после начала роста с постоянной скоростью, размеры меристемы и зоны растяжения, длины меристематических и закончивших рост клеток, толщина корня, число меристематических клеток коры в одном ряду. Полученные данные позволили далее вычислить продолжительности митотических циклов и роста клеток растяжением, а также относительные скорости роста меристематических и растягивающихся клеток. Средние скорости роста корней проростков однодольных составили  $0,7 \pm 0,1$ , придаточных корней однодольных –  $0,3 \pm 0,1$ , двудольных –  $0,5 \pm 0,1$  мм/ч. Минимальные и максимальные значения составляли: для однодольных из семян 0,08 (*Agrostis stolonifera* L., *Luzula elegans* Lowe) и 2,2 (*Zea mays* L.), для придаточных корней однодольных – 0,05 (*Galanthus nivalis* L.) и 1,0 (*Allium cepa* L.), для двудольных – 0,08 (*Nicotiana glauca* L.) и 1,4 (*Cucumis melo* L.) мм/ч. Корреляционный анализ результатов показал, что скорость роста ( $V$ ) корней зависит от числа меристематических клеток в ряду ( $N_m$ ) (коэффициент корреляции для однодольных из семян  $R=0,92$ , для придаточных корней однодольных  $R=0,50$  и для двудольных  $R=0,81$  при  $P=0,05$ ). Скорость роста корней проростков коррелировала с диаметром корня ( $D$ ) (коэффициент корреляции  $R=0,86$  и  $0,74$  при  $P=0,05$  для однодольных и двудольных соответственно). Для придаточных корней этот коэффициент корреляции был равен  $0,36$ . Скорость роста корней слабее коррелировала с продолжительностями митотических циклов ( $T$ ) ( $R=0,32$ ,  $0,50$ ) у однодольных и не коррелировала у двудольных ( $0,02$ ). Скорость роста корней более заметно коррелировала с длиной закончивших рост клеток ( $R=0,55$  для проростков однодольных,  $0,44$  для придаточных корней однодольных и  $0,74$  – для проростков двудольных). Однако не наблюдалось заметной корреляции между скоростью роста корня и относительной скоростью роста растягивающихся клеток. Сравнение корней разных видов и корней разных порядков в одной корневой системе показывает четко выраженную положительную корреляцию между диаметром корня и длиной меристемы ( $R=0,97$ ,  $0,81$ ,  $0,98$ ). Размер меристемы и число меристематических клеток в ряду являются, таким образом, определяющим фактором от которого зависит скорость роста корня. Скорость роста зависит от скорости образования клеток. Интересно, что в корнях различия в скоростях образования клеток в большей мере зависят от числа пролиферирующих клеток, а не от скорости их деления (продолжительности митотического цикла). Полученные результаты позволяют высказать гипотезу о том, что заложенный размер меристемы при формировании зародыша в семени или при формировании бокового корня определяет уровень притока к развивающейся меристеме соединений сверху и тем самым регулирует ее размер, который зависит от уровня притока. Достигнутый размер меристемы определяет поддержание в дальнейшем размеров меристемы и скорость роста корня.

Работа частично поддержана грантом РФФИ № 15-04-02502а

## Морфогенез в культуре меристем сортов мяты на первом и втором этапах микроразмножения *in vitro*

Загорская М.С., Егорова Н.А.

ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма». ул. Киевская 150, г. Симферополь,  
Крым, Россия  
[zagorskayamargo@gmail.com](mailto:zagorskayamargo@gmail.com)

Мята – широко распространенное многолетнее травянистое лекарственное, эфиромасличное и пряноароматическое растение семейства *Lamiaceae*. Различные виды рода *Mentha* используются в фармакологии, косметической и пищевой промышленности, а также в медицине. Препараты из растений мяты оказывают антисептическое, седативное, умеренное спазмолитическое, желчегонное, антиэметическое действие. Интерес к этому ценному растению обуславливает активное проведение селекционной работы, в том числе и по созданию новых эфиромасличных сортов. Для повышения эффективности селекционной и семеноводческой работы в настоящее время применяются биотехнологические методы. Одним из наиболее распространенных и имеющих практическое значение приемов клеточной инженерии является клональное микроразмножение. Этот метод позволяет не только быстро размножить ценные селекционные образцы и сорта, но и является основой биотехнологий получения оздоровленного посадочного материала, а также создания коллекций генетической плазмы *in vitro*. В литературе имеются сведения о различных аспектах микроразмножения в культуре различных видов мяты. Однако высокая генетическая зависимость процессов морфогенеза в культуре тканей и органов обуславливает необходимость усовершенствования методик и подбора условий размножения для новых сортов и образцов. Целью наших исследований было изучение влияния сорта и длительности культивирования на морфометрические показатели в культуре меристем мяты на первом и втором этапах клонального микроразмножения *in vitro*.

Материалом для исследований служили ткани и органы трех эфиромасличных сортов мяты: Ажурная (сорт получен путем свободного переопыления полиплоида *Mentha canadensis* L. с представителями дикорастущих видов), Бергамотная (*Mentha citrata* Ehrh. x *M. longifolia* L.) x *M. spicata* L.) и Украинская Перечная (*M. piperita* L. x *M. spicata* L.). Исходные растения выращивали в полевых условиях в коллекционном питомнике ФГБУН «НИИСХ Крыма». В качестве эксплантов использовали верхушечные и пазушные меристемы с двумя листовыми примордиями. Для стерилизации растительного материала применяли 70% этанол, и 50% раствор препарата «Брадофен 10Н». Подготовка материалов, питательных сред и работа в стерильных условиях проводились согласно общепринятым методикам работы с культурой органов и тканей *in vitro*. Для введения меристем в культуру и микроразмножения использовали питательную среду Мурасиге и Скуга с добавлением БАП (1,0 мг/л) и ИУК (0,5 мг/л.).

В результате проведенных экспериментов были подобраны условия для получения стерильного растительного материала и развития меристем при введении эксплантов мяты в культуру *in vitro*. Для всех изученных генотипов была характерна 100% приживаемость меристем на используемой питательной среде. На первом этапе микроразмножения происходило развитие основного побега, а также активное адвентивное побегообразование. Так, у 'Украинской Перечной' формировалось 2,9, у 'Бергамотной' – 3,0 и у 'Ажурной' – 3,6 побега/эксплант. При этом развивались достаточно длинные побеги, в среднем до 37,7 мм. Уже на этапе введения у 'Украинской Перечной' и 'Ажурной' было отмечено формирование корней с частотой от 21,4 до 83,3%. У сорта Бергамотная ризогенез в этот период не был выявлен. Лучшее развитие побегов из меристем происходило у 'Ажурной', у которой почти все изученные морфометрические показатели были значительно выше, чем у других сортов.

На втором этапе клонального микроразмножения было выявлено влияние сорта и количества субкультивирований на основные морфометрические показатели микропобегов и коэффициент размножения. Для размножения на этом этапе использовали микрочеренкование основного и дополнительных побегов. Установлено, что у всех сортов большинство показателей было выше в первом субкультивировании. Коэффициент размножения в 1-м пассаже в зависимости от сорта варьировал от 8,3 до 11,1. При дальнейшем микрочеренковании в течение семи пассажей отмечено снижение числа побегов на эксплант. Так, в первом пассаже количество побегов в среднем было от 2,3 ('Бергамотная') до 4,2 шт./эксплант ('Украинская Перечная'), а в седьмом – 2,1-2,4 шт./эксплант. Однако при этом возрастала длина побегов (в первом пассаже 30,1-44,0 мм, а в седьмом – 42,8-54,9 мм).

При сравнении сортов отмечены некоторые различия в развитии меристемных культур. У 'Ажурной' происходило постепенное снижение коэффициента размножения (от 8,7 в первом субкультивировании до 6,1 в седьмом.). У 'Украинской Перечной' также наблюдалось снижение этого показателя от 11,1 до 7,2. В то же время у 'Бергамотной' коэффициент размножения достоверно не изменялся. На 2-м этапе микроразмножения у всех сортов было выявлено активное корнеобразование, что позволяет уже с этого этапа переводить микрорастения на адаптацию *in vivo*. Установлено снижение частоты корнеобразования при длительном микроразмножении изученных сортов мяты. Так, в первом пассаже частота корнеобразования варьировала от 46,0 до 72,2% (в зависимости от сорта), а в 7-ом – от 30,5 до 45,7%.

## Скрининг АГЛ-синтезирующих бактерий из ризосферы *Dactylorhiza maculata* (L.) Soo (Orchidaceae Juss.).

Зайцева Ю.В., Сидоров А.В., Маракаев О.А., Шеховцова Н.В.

Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова. Советская ул., 14, Ярославль, Россия  
[y.zaytseva@uniyar.ac.ru](mailto:y.zaytseva@uniyar.ac.ru)

В естественных условиях высшие растения всегда связаны со сложной и относительно постоянной микробиотой. Сообщество ассоциированных с растением микроорганизмов является ключевым фактором, определяющим его жизнедеятельность и продуктивность. Образование и функционирование таких надорганизменных систем определяется целой сетью растительно-микробных и микроб-микробных коммуникаций, которые осуществляются посредством высвобождения различных сигнальных соединений. Основной формой коммуникации бактерий выступают Quorum Sensing (QS) системы. Это особый тип регуляции экспрессии генов бактерий, зависящей от плотности их популяции. QS системы включают низкомолекулярные сигнальные молекулы (аутоиндукторы), легко диффундирующие из клеток в среду и обратно, и рецепторные регуляторные белки, с которыми взаимодействуют сигнальные молекулы. Основным классом аутоиндукторов большинства грамотрицательных бактерий являются N-ацил-гомосеринлактоны (АГЛ). Ассоциированные с растениями бактериальные сообщества способны синтезировать АГЛ, которые могут оказывать влияние как на состав микробиоты, так и на важные процессы жизнедеятельности растений. Известно, что молекулы АГЛ могут воздействовать на экспрессию генов растений и различные физиологические функции, такие как скорость роста, развитие корневой системы, устойчивость к патогенным микроорганизмам, синтез внеклеточных гидролитических ферментов и другие. Идентификация ассоциированных с растениями микроорганизмов, которые способны активно синтезировать сигнальные молекулы (АГЛ), может иметь важное значение для понимания механизмов растительно-микробных взаимодействий. Тем не менее, в настоящее время, данные о разнообразии АГЛ сигнальных молекул в природных экосистемах и их потенциальном воздействии на жизнедеятельность растений все еще ограничены, а для растений семейства Orchidaceae практически отсутствуют.

Цель настоящего исследования – выделение, скрининг и идентификация АГЛ-синтезирующих штаммов бактерий, ассоциированных с подземными органами пальчатокоренника пятнистого (*Dactylorhiza maculata* (L.) Soo).

В работе исследованы микроорганизмы ризосферы генеративных растений *D. maculata*, произрастающих на территории Ярославской области в молодом злаково-разнотравном березняке с примесью ольхи на дерново-подзолистой суглинистой почве с содержанием гумуса в корнеобитаемом слое 0,2%, значение pH 6,0. Материал для исследований отбирали в фазу формирования ассимиляционного аппарата (май). Подземные органы аккуратно выкапывали и освобождали от почвы. Одновременно отбирали почвенные пробы из ризосферы придаточных корней (на глубине 1–3 см) и окончаний стеблекорневых тубероидов (на глубине 4–10 см). Количество разных эколого-трофических групп микроорганизмов определяли методом разведения почвенной суспензии с последующим высевом ее на плотные питательные среды.

Определение способности различных бактерий синтезировать АГЛ проводили с использованием репортерного штамма *Chromobacterium violaceum* CV026. В штамме *C. violaceum* CV026 с инсерцией транспозона mini-Tn5 инактивирован ген синтазы АГЛ *cvrI*, который отвечает за синтез N-гексаноил-гомосеринлактона (С6-ГЛ). Мутация в этом гене приводит к отсутствию синтеза АГЛ и фиолетового пигмента виолацеина. Синтез виолацеина в штамме CV026 индуцируется С6-ГЛ и другими АГЛ с длиной боковых ацильных цепочек от 4 до 8 атомов углерода с различной степенью чувствительности. Определение синтеза АГЛ проводили на чашках с использованием репортера *C. violaceum* CV026. Мутантный штамм поддерживали на агаризованной среде LB с канамицином (100 мкг/мл). Для определения АГЛ клетки штамма *C. violaceum* CV026 высевали штрихами на поверхность агаризованной среды LB без канамицина, пересекали эти штрихи отдельными штрихами тестируемых культур. Посевы инкубировали 48 часов при 30°C. В случае, когда штамм продуцировал АГЛ, наблюдалось окрашивание индикаторного штамма (CV026) в фиолетовый цвет, за счет синтеза клетками пигмента виолацеина. Интенсивность окраски оценивали визуально.

Из 112 бактериальных изолятов (штаммов), выделенных из ризосферы *Dactylorhiza maculata*, лишь три штамма бактерий демонстрировали способность к синтезу АГЛ. На основании микробиологических и биохимических тестов все три штамма были идентифицированы как представители рода *Pseudomonas*. Для более точной идентификации штаммов использовали молекулярно-генетический анализ нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК. Сравнительный анализ отсекувенированных последовательностей исследуемых штаммов с генами 16S рРНК из базы данных GenBank проводили при помощи программы BLAST. Анализ показал, что филогенетически данные штаммы относятся к видам *Pseudomonas chlororaphis*, *Pseudomonas brassicacearum* и *Pseudomonas aeruginosa*.

## Роль АБК и этилена в осморегуляции мужского гаметофита петунии в прогамной фазе оплодотворения

Захарова Е.В., Тимофеева Г.В. \*, Воронков А.С. \*, Ковалева Л.В. \*

ФГБОУ ВПО РГАУ МСХА им. К.А. Тимирязева, Тимирязевская 49, Москва, Россия  
\*Институт физиологии растений им. К. А.Тимирязева РАН, Ботаническая 35, Москва Россия  
[zakharova\\_ekater@mail.ru](mailto:zakharova_ekater@mail.ru)

Прорастание пыльцевых зерен и рост пыльцевых трубок во многом определяется увеличением их объема за счет поступления воды через их плазмалемму (ПМ), обусловленного генерацией на ней трансмембранного осмотического градиента, создаваемого транслокацией через эту мембрану ионов  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{H}^+$ ,  $\text{K}^+$  и  $\text{Cl}^-$ . Цель данного исследования состояла в проверке гипотезы о том, что этилен регулирует прорастание и рост мужского гаметофита петунии, взаимодействуя с АБК – стрессовым гормоном, способным контролировать водный статус растительных клеток. Получены данные о включении АБК в осморегуляцию прорастающего *in vitro* мужского гаметофита петунии (*Petunia hybrida* L.). Выявлены две мишени действия АБК в пыльцевой трубке: (1)  $\text{H}^+$ -АТФаза ПМ, электрогенный протонный насос, участвующий в поляризации пыльцевой трубки, и (2)  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимые  $\text{K}^+$ -каналы. Внесение АБК в суспензию пыльцы, прораставшей в течение 1 ч, инициировало гиперполяризацию ПМ мужского гаметофита, которая полностью подавлялась в присутствии ванадата. Установлено, что стимуляторный эффект АБК на электрогенную активность  $\text{H}^+$ -АТФазы опосредован транзитным увеличением уровня  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле. Стимуляция электрогенной активности плазмалеммой  $\text{H}^+$ -АТФазы мужского гаметофита, ответственная за гиперполяризацию этой мембраны, наблюдалась как на стадии прорастания пыльцевых зерен, так и роста пыльцевых трубок. Полученные данные согласуются с гипотезой Ланга о центральной роли  $\text{H}^+$ -АТФазы в регуляции роста пыльцевых трубок. Процесс прорастания мужского гаметофита петунии сопровождался образованием АФК, наиболее интенсивным на стадиях гидратации и инициации прорастания пыльцевых зерен, в ходе которого не исключается возможность взаимодействия АФК и АБК. Эффекты АБК на динамику генерации АФК зависели как от концентрации и времени действия гормона, так и стадии прорастания мужского гаметофита. Полученные результаты о роли ионов  $\text{K}^+$  в гормональном контроле движущих сил транспорта воды позволили сформулировать гипотезу о том, что АБК стимулирует прорастание пыльцевых зерен и рост пыльцевых трубок, активируя  $\text{K}^+$ -каналы. Калий как основной осмотически-активный агент в клетках растений обеспечивает поддержание их тургорного давления и его поглощение создает движущую силу для трансмембранных осмотических потоков воды в клетки, растущие растяжением. Как осмотический регулятор калий необходим для прорастания пыльцы и роста пыльцевых трубок, которые используют  $\text{K}^+$ , наряду с другими осмотиками. В ходе ингибиторного анализа установлено, что ТЕА-Cl, ингибитор  $\text{K}^+$  каналов клеточных мембран, ингибирует прорастание пыльцы, культивируемой на среде, содержащей 0.4 М сахарозу и 1.6 мМ  $\text{H}_3\text{BO}_3$ . При совместном внесении в среду АБК с ТЕА-Cl наблюдали снятие его ингибиторного эффекта и стимуляцию роста пыльцевых трубок. Мы полагаем, что АБК стимулирует прорастание и рост пыльцевых трубок, активируя  $\text{K}^+$ -каналы в ПМ. Установлено, что АБК снимает не только ингибиторный эффект ингибитора синтеза АБК – флуридона, но и блокатора рецепторов этилена – 1-метилциклопропена и ингибитора синтеза 1-аминоциклопропан-1-карбоновой кислоты (АЦК) – аминоксиуксусной кислоты (АОК) на *in vitro* прорастание и рост пыльцевых трубок, в то время как этрел блокировал ингибиторный эффект флуридона на рост трубок. Результаты дают основание полагать, что АБК участвует в осморегуляции мужского гаметофита петунии, взаимодействуя с этиленом на уровне синтеза АЦК в ходе прогамной фазы оплодотворения.

## Физиолого-биохимические основы устойчивости к фитопатогенам трансгенных растений *Camelina sativa* L. с геном цекропина P1

Захарченко Н.С., Фурс О.В., Пиголева С.В., Шевчук Т.В., Дьяченко О.В., Бурьянов Я.И.

Филиал ФГБУН Института биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН,  
Проспект Науки, 6, Пушкино, Россия  
[zachar@bibch.ru](mailto:zachar@bibch.ru)

Камелина (*Camelina sativa* (L.) Crantz) - масличное растение семейства *Brassicaceae*. Масло семян этих растений отличается уникальным составом жирных кислот, из которых 90% являются ненасыщенными, доля  $\omega$ -3 ненасыщенных жирных кислот составляет 35-40%. В настоящее время развивается выращивание камелины в Северной Америке, Канаде, Австралии и Европе. В этих странах получены трансгенные растения *Camelina sativa*, устойчивые к гербицидам, с модифицированным составом жирных кислот, устойчивые к некоторым болезням. В России камелина выращивается в основном как культура для поддержания севооборота под зерновыми культурами и подсолнечником. Для производства масла его выращивают в ограниченном количестве в Орловской, Волгоградской и Саратовской областях. Рыжиковое масло производится с 2000 г компанией «Провансаль» и является продуктом диетического питания для больных сердечно-сосудистыми заболеваниями. Растение *C. sativa* может подвергаться действию грибных и бактериальных фитопатогенов, вызывающих заболевания корневой гнили (*Pythium sp.*), ложной мучнистой росы (*Peronospora sparsa*) и увядания (*Fusarium*). Одним из методов повышения устойчивости растений к фитопатогенам может быть трансформация растений генами антимикробных пептидов (АМП), обладающих широким спектром антибиотической и фунгицидной активности.

Целью нашей работы было исследование физиолого-биохимических основ устойчивости к фитопатогенам трансгенных растений *Camelina sativa* L. с геном цекропина P1 (*cecP1*). Генетическую трансформацию камелины проводили методом агроинфильтрации незрелых цветочных почек. Присутствие гена *cecP1* в геноме растений подтверждено методом ПЦР. Экспрессия гена *cecP1* в трансгенных растениях показана вестерн-блот анализом и по антимикробной активности растительных экстрактов по отношению к бактериальным фитопатогенам. Полученные трансгенные растения F<sub>0</sub> и F<sub>1</sub> имели нормальный фенотип и сохраняли способность образовывать при самоопылении жизнеспособные семена. *CecP1*-растения обладали повышенной устойчивостью к бактериальным и грибным фитопатогенам: *Erwinia carotovora*, *Fusarium sporotrichioides* и *Botrytis cinerea*). Устойчивость растений к стрессовым воздействиям зависит от многокомпонентной антиокислительной системы, которая поддерживает уровень образовавшихся в клетках активных форм кислорода на оптимальном уровне. Одной из первых защитных реакций клетки в ответ на микробную инфекцию является быстрое накопление активных форм кислорода (АФК): супероксид-анион, гидроксильный радикал и пероксид водорода, которые снижают жизнеспособность фитопатогенов, приводя к окислительному повреждению их белков, нуклеиновых кислот и липидов. В условиях биотического стресса, вызванного заражением *E. carotovora*, проводилось определение активности супероксиддисмутазы (СОД), уровня перекисного окисления липидов (ПОЛ) и содержания пролина в клетках трансгенных и нетрансгенных растений. Активность СОД в стрессовых условиях заражения патогеном *E. carotovora* повышалась как в трансгенных, так и в нетрансгенных (контрольных) растений. Однако в листьях контрольных зараженных растений активность фермента возрастала в 6 раз, а у трансгенных зараженных растений лишь в 1,5 - 2,4 раза. Отмечено незначительное различие в повышении уровня перекисного окисления липидов между контрольными и трансгенными растениями. Определяли содержание пролина в трансгенных и контрольных растениях. Обнаружено значительное повышение уровня пролина – в 2,3 раза в листьях растений при воздействии патогена. Однако в листьях трансгенных растений содержание пролина колебалось в пределах дострессового уровня. Относительно низкое повышение активности СОД и содержания пролина у инфицированных трансгенных растений по сравнению с зараженными нетрансформированными растениями можно объяснить защитным действием цекропина P1, инактивирующим патогены. В семенах трансгенных растений камелины обнаружено повышенное содержание полезных ненасыщенных жирных кислот (линолевой и линоленовой) по сравнению с семенами исходных растений.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Биоразнообразие природных систем». Код Программы I.29П « 0101-2015-0002 Биоинженерная модификация масличных растений *Camelina sativa* для применения в современной агробиотехнологии.

## УФ-радиация влияет на функциональное состояние бореальных лишайников и индуцирует защитные реакции в их талломах

Захожий И.Г., Головки Т.К., Дымова О.В., Малышев Р.В., Табаленкова Г.Н., Шелякин М.А.

Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, Коммунистическая ул., 28, Сыктывкар,  
Россия  
[zakhozhiy@ib.komisc.ru](mailto:zakhozhiy@ib.komisc.ru)

Растения воспринимают и реагируют на интенсивность, спектральный состав, продолжительность и ритмичность световых сигналов. Коротковолновая область (280-400 нм) относится к ультрафиолетовому излучению (УФ-радиация) и известна как ближний ультрафиолет (УФ А+В). Рецепторами УФ-В (280-320 нм) служат обнаруженные недавно UVR8 белки. Криптохромы и фототропин чувствительны к УФ-А излучению и синему свету (320-500 нм). Прогнозируемое в ближайшие десятилетия повышение поступления УФ-радиации потенциально опасно для живых организмов и может оказать существенное влияние на экосистемные процессы, особенно в Северном полушарии, обширные территории которого занимает таежная зона.

Нами получены новые данные, свидетельствующие о фотобиологическом действии УФ (А+В) - радиации на модельные растения и объекты природной флоры среднетаежной зоны европейского северо-востока России. Впервые исследованы эффекты ближней УФ-радиации на процессы жизнедеятельности и защитные механизмы лишайников - симбиотической ассоциации грибного (микобионт) и фотосинтезирующего (фотобионт) компонентов. Установлено, что ежедневное длительное (2 недели) низко интенсивное облучение талломов *Lobaria pulmonaria* УФ-В радиацией (дневная доза – 4.5, суммарная – 62.4 кДж/м<sup>2</sup>) не оказывало существенного влияния на фотосинтетический аппарат фотобионта – зеленой водоросли из рода *Dictyochloropsis*. К концу опыта контрольные талломы оставались зелеными, а опытные приобретали буровато-кирпичный оттенок в результате отложения на поверхности гифов верхнего корового слоя пигмента меланина (продукт окислительной полимеризации тирозина), что подтверждено и анатомо-микроскопическими данными. Прямое определение содержания меланина затруднено из-за низкой растворимости данного соединения. Поэтому уровень накопления этого пигмента оценивали по спектру отражения талломов. Индекс BRI (browning reflectance index), рассчитанный на основе анализа спектров отражения, у экспонируемых к УФ талломов был в 5-6 раз выше, чем у контрольных. Защитная роль пигмента, экранирующего альгальный слой, подтверждается данными о сохранении функционального состояния фотосинтетического аппарата и пигментного комплекса (содержания и соотношения фотосинтетических пигментов) фотобионта. Статистически значимое снижение абсолютных величин уровня фоновой (F<sub>o</sub>) и максимальной (F<sub>m</sub>) флуоресценции хлорофилла является следствием изменения оптических свойств корового слоя и уменьшения потока ФАР, поступающего к водорослевому слою талломов. Эти изменения четко проявлялись уже через 7 дней после начала облучения слоевищ ультрафиолетом. Изменение светопрозрачности корового слоя не повлияло на уровень реализации поглощенной антенным комплексом энергии светового потока в фотохимических реакциях ФС II зеленой водоросли. Реальный квантовый выход ФСII фотобионта в опыте и контроле составлял около 0.52 отн.ед. при интенсивности ФАР 180 мкмоль квантов/м<sup>2</sup>с, типичной для естественных метообитаний лишайника. Показатель нефотохимического тушения (NPQ), характеризующий долю диссипируемой в виде теплового излучения энергии, у талломов в опыте был на 25-30% ниже, чем в контроле. Изменение оптических свойств корового слоя талломов под воздействием УФ-радиации не повлияло на нетто-поглощение CO<sub>2</sub>. К середине опыта было отмечено повышение интенсивности данного процесса, но к концу двухнедельного воздействия стимулирующий эффект УФ не проявлялся. Адаптивной реакцией является усиление дыхания и активация цитохромного пути, что косвенно может свидетельствовать о запросе на дополнительную энергию для синтеза пигмента, образующего защитный слой. Талломы в опыте и контроле не отличались по уровню накопления продукта перекисного окисления липидов - малонового диальдегида. Можно предположить, что образование защитного слоя пигмента предотвращало образование избытка АФК, либо антиоксидантная система клеток была способна быстро их обезвреживать. Проведенные исследования – важный шаг для дальнейшего выявления механизмов устойчивости лишайников к факторам среды и прогнозирования их поведения в условиях глобальных климатических изменений.

Работа выполнена в рамках темы «Физиология и стресс-устойчивость фотосинтеза растений и пойкилогидрических фотоавтотрофов в условиях Севера» (№ АААА-А17-117033010038-7), поддержана грантом Программы фундаментальных исследований Президиума РАН по направлению «Живая природа: современное состояние и проблемы развития» (проект 15-12-4-4).

**Микроклональное размножение некоторых видов древесно-кустарниковых и травянистых растений в Ботаническом саду им. проф. Б.М. Козо-Полянского Воронежского государственного университета***Землянухина О.А., Калаев В.Н.*

ФГБОУ ВПО "Воронежский государственный университет" (ФГБОУ ВО «ВГУ»), 394006, г Воронеж, пл. Университетская, д 1, Россия +7(473)2208876  
[oz54@mail.ru](mailto:oz54@mail.ru)

С целью создания и сохранения коллекций *in vitro* на базе ботанического сада им. Б.М. Козо-Полянского Воронежского государственного университета были введены в культуру ткани и получены активно пролиферирующие культуры черемухи обыкновенной сорта *Colorata* (*Prunus padus* L. "Colorata"), относящейся к роду слива семейства розоцветные. Сорт *Colorata* является одним из самых эффективных сортов черемухи с темно-вишневыми весенними листьями и кистями с розовыми цветками, высокодекоративными во время цветения. Высокозимостойкий сорт, хорошо поддается формирующей обрезке, но трудно размножаемый черенками.

Другим растением, введенным в культуру ткани *in vitro*, была керрия японская сорта "Golden Guinea" (*Kerria japonica* D.C.), – кустарник семейства розоцветные, высотой до 2 метров, с красивыми разрезными листьями и простыми большими пятилепестными желтыми цветками. Преимущество данного сорта заключается в раннем цветении, которое может длиться до 50 дней. Хорошо переносит морозные зимы, быстро восстанавливается при подмерзании. Очень выгоден для коммерческого размножения, т.к. имеет высокий коэффициент размножения в условиях *in vitro*.

Также в культуру тканей *in vitro* были введены редкие, находящиеся под угрозой вымирания, виды колокольчиков, произрастающих в средней полосе России: *Campanula rotundifolia* L. (колокольчик круглолистный), *Campanula persicifolia* L. (колокольчик персиколистный), *Campanula trachelium* L. (колокольчик крапиволистный), *Campanula rapunculoides* L. (колокольчик рапунцелевидный, или колокольчик Гроссгёйма, или колокольчик репчатовидный), *Campanula glomerata* L. (колокольчик скученный).

Примечательным является тот факт, что столь разные формы растений как дерево, кустарник и травянистые колокольчики были введены в культуру ткани одним универсальным способом с использованием участков стебля с одной-двумя латеральными почками (февраль-март, древесные и кустарниковые) или участков цветоносов с пазушными почками (на протяжении всего вегетационного периода). Стерилизация первичных эксплантов достигалась погружением промытых в проточной воде (30 мин) отрезков стеблей и веток в раствор, содержащий 4% бытового отбеливателя «Белизна» и 0,01-0,02% мертиолята (орго-этилртутьтиосалицилата натрия) на 20-40 мин с последующим трехкратным отмыванием стерильной водой. Наиболее критичной стадией при микроклональном размножении указанных видов растений являлась стерилизация, особенно для низкорослых травянистых колокольчиков. Поэтому была использована дополнительная стадия обработки эксплантов раствором бензилпенициллина (200 мг/л) без последующего отмывания. Побеги нарезали на части с одной почкой и помещали на поверхность питательной среды  $\frac{1}{2}$  Woody Plant Medium ( $\frac{1}{2}$ WPM) в случае древесных растений или Murashige, Skoog ( $\frac{1}{2}$ MS) в случае колокольчиков, с половинным набором макроэлементов и сахарозы, дополненных 0,2 мг/л бензиламинопурина и 0,1 мг/л гиббереллина (ГАЗ). Растения выращивали на светокультуральных стеллажах с применением светодиодных лент общей освещенностью 2500-3000 люкс и 16-часовым фотопериодом. Развитие побегов происходило в течение одной-двух недель (колокольчики) или месяца (древесные и кустарниковые). Изолированные растения помещали на питательные среды того же состава для пролиферации побегов. Укоренение в случае колокольчиков достигалось на безгормональных средах, керрии – с дополнением 1 мг/л индолилмасляной кислоты (ИМК), а для черемухи питательная среда была дополнена 1 мг/л индолилуксусной кислоты в сочетании с 1 мг/л ИМК. Периодичность пассирования составляла от 2 недель (колокольчики) до одного-двух месяцев (черемуха). В культивационных сосудах нередко наблюдалось цветение колокольчиков, растения быстро заполняли весь объем сосуда. Поэтому их черенкование было более частым, чем древесных растений. Адаптация к нестерильным условиям происходила под легким пластиковым укрытием, при образовании более плотных корней растения переносили под открытое небо в полутень. Микроклональные растения керрии японской сохраняют в культуре ткани стабильность генотипа на протяжении трех лет, что подтверждается выполненным с использованием восьми олигопраймеров ПЦР-анализом. Наиболее сложным является размножение деревьев черемухи *Colorata*, возраст деревьев около 15-16 лет. Сложность заключается в чередовании безгормональной питательной среды  $\frac{1}{2}$ WPM и среды аналогичного состава, дополненной 6-10 г/л активированного угля с целью предотвращения каллусообразования. После полугодичной инкубации наблюдается увеличение коэффициента размножения и количества образующихся корней на одно растение. Микроклональные черемухи наиболее сложно поддаются адаптации к нестерильным почвенным условиям. Поэтому на первом этапе адаптации микроклоны переносили на стерильный хорошо отсеянный песок, а уже после начала апикального роста и образования настоящих листьев растения переносили в горшки с грунтом, состоящим из 1 объемной части чернозема, 2 частей песка, 2 частей нейтрализованного верхового торфа.

Приносим благодарность воронежскому коллекционеру-интродуктору Андрею Анатольевичу Миляеву и старшему научному сотруднику ботанического сада им. проф. Б.М. Козо-Полянского Татьяне Валентиновне Барановой за предоставление растительного материала для микроклонального размножения.



**Отложение каллозы в волокнах флоэмы льна (*Linum usitatissimum* L.) при гравитропизме*****Ибрагимова Н.Н., Агеева М.В., Горшков О.В., Мокишина Н.Е., Горшкова Т.А.***ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Лобачевского ул., 2/31, Казань, Россия  
[nibra@yandex.ru](mailto:nibra@yandex.ru)

Каллоза ( $\beta$ -1,3-глюкан) – линейный растительный полисахарид, который играет важную роль в различных стадиях индивидуального развития и при стрессах. Имеются сведения, что каллоза участвует в создании определенной формы клеток с первичной клеточной стенкой. Нами впервые показано, что каллоза формируется во флоэмных волокнах в ходе развития гравитропической реакции в зоне стебля, давно закончившего рост растяжением. При этом флоэмные волокна, находясь на стадии формирования третичной клеточной стенки, способны изменять свою форму. При анализе поперечных и продольных срезов стебля льна (*Linum usitatissimum* L.), изгибающегося в ходе гравитропической реакции, установлено, что на тянущей стороне стебля флоэмные волокна становились похожими на «связку сарделек». Было выявлено, что узкие места, благодаря которым формируется эта сегментация, запечатываются каллозой. Для изучения динамики накопления этого полисахарида в волокнах стебля льна нами модифицирован известный метод количественного определения каллозы, используя анилиновый синий, и проведена количественная оценка каллозы на уровне индивидуальных клеток растения (флоэмных волокон) в ходе гравитропической реакции. С использованием методов транскриптомики проанализированы данные по изменению относительного содержания транскриптов генов, ответственных за синтез и гидролиз этого глюкана на разных сторонах изгибающегося стебля льна. Полученные данные свидетельствуют, что цитоплазматическая мембрана содержит пул неактивной каллозо-синтазы, который может быть быстро активирован при необходимости, и позволяют сделать предположение, что каллоза является необходимым биохимическим компонентом флоэмных волокон растений при гравитропизме.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, Грант № 16-14-10256

**Закономерности сезонного варьирования пигментного состава степных и лесных растений***Иванов Л.А., Иванова Л.А., Ронжина Д.А., Юдина П.К.*Ботанический сад Уральского отделения РАН, ул. 8 Марта, 202а, 620144, Екатеринбург, Россия  
[Леонид.Ivanov@botgard.uran.ru](mailto:Леонид.Ivanov@botgard.uran.ru)

Исследование параметров пигментного аппарата растений является важным вопросом в изучении адаптации фотосинтетической функции растений к условиям среды. Содержание пигментов в растениях зависит от многих факторов окружающей среды. В растениях постоянно происходит распад и синтез новых молекул хлорофиллов и каротиноидов, что приводит к акклимации пигментного комплекса к меняющимся условиям среды обитания. В связи с этим содержание фотосинтетических пигментов и соотношение их форм может отражать модификации фотосинтетического аппарата при изменении условий и обеспечивать его функциональную диагностику. Важным вопросом является влияние даты сбора материала на получаемые параметры пигментного комплекса, поскольку они могут изменяться вслед за погодными условиями в течение вегетационного сезона.

Целью нашей работы было сравнение изменений пигментного комплекса в течение вегетационного сезона в двух принципиально различных типах сообществ - степном и лесном, находящихся изначально в одинаковых макроклиматических условиях. Исследования проводили в течение вегетационного сезона 2014 г. с июня по август (всего 5 временных точек) в 50 км на юго-восток от г. Екатеринбурга, что находится в подзоне предлесостепных сосново-березовых лесов, где степные участки располагаются на склонах южных экспозиций, имеют небольшую площадь, представлены изолированными островами в окружении лесной растительности. Содержание пигментов определяли у 15 наиболее распространенных видов растений в каждом из сообществ: степном (разнотравно-ковыльная степь) и лесном (сосновый лес). Пигменты экстрагировали 80% ацетоном, их количество определяли на спектрофотометре Odyssey DR/2500 (HACH, США). Концентрацию хлорофиллов и каротиноидов в полученных экстрактах рассчитывали по формулам (Lichtenthaler, Wellburn, 1983). Содержание пигментов рассчитывали на единицу площади и на единицу сухого веса листа. Также у растений определяли УППЛ (весовым методом) и толщину листа (с помощью цифрового микрометра в 10 биологических повторностях для одного вида).

Анализ климатических данных показал, что в летний период в степном сообществе температура в среднем была на 0.5 -1.5 °С выше, а влажность воздуха на 10-15 % ниже, чем в лесном сообществе. Растения степных сообществ отличались от лесных более высокой толщиной (на 50-80 %) и плотностью листьев (на 80-100 %) и низким содержанием хлорофиллов и каротиноидов в единице массы листа. Такие различия между степными и лесными видами сохранялись на протяжении всего вегетационного сезона независимо от даты сбора. Однако, при расчете на ед. площади листа, содержание хлорофиллов не различалось между степными и лесными видами не смотря на различия в толщине и плотности листа. Учитывая, что оба сообщества являются естественными растительными сообществами и находятся в одном климатическом районе, мы можем предположить, что сходные средние значения содержания хлорофиллов на единицу площади листа связаны с одинаковым количеством падающей радиации, и преобладающие виды в обоих сообществах преадаптированы к среднесезонным параметрам климата и прежде всего к интенсивности освещения. При этом, и у степных и у лесных растений, содержание хлорофиллов в единице площади листа мало изменялось в течение сезона, и на протяжении сезона составляло 3-4 мг/дм<sup>2</sup>.

Другие закономерности наблюдались при сравнении отношений форм пигментов: Хлорофиллов *a/b* (Хл *a/b*) и Хлорофиллы/Каротиноиды (Хл/Кар). Так, соотношение Хл/Кар у степных растений в середине вегетационного сезона (вторая половина июня – июль) было ниже, чем у лесных растений, тогда как в ранне- и позднелетний периоды даже выше, чем у лесных. При этом увеличение Хл/Кар у степных растений ранним и в позднем летом происходило за счет уменьшения содержания каротиноидов. Подобная картина наблюдалась и при изменении соотношения Хл *a/b*. В середине сезона у степных растений это отношение было выше, а в ранне- и позднелетний периоды приближалось к значениям лесных растений.

Корреляционный анализ показал наличие связи между параметрами пигментного комплекса степных растений и среднесуточным количеством рассеянной солнечной радиации. Корреляции с другими климатическими показателями отсутствовали.

Работа выполнена при поддержке РФФИ № 15-04-04186 и 15-04-06574.

## Роль температурного фактора в морфогенезе генеративных органов лиственницы сибирской (*Larix sibirica*)

Иванова А.Н., Голованова Т.И.

ФГАОУ ВПО «Сибирский федеральный университет» (СФУ), кафедра водных и наземных экосистем, 660041 пр. Свободный, 79, г. Красноярск, Россия, тел. +7 (391) 244-86-25, факс +7 (391) 244-86-25  
[annaivanova\\_2000@mail.ru](mailto:annaivanova_2000@mail.ru)

В настоящее время накоплен значительный материал по различным аспектам изучения андрогенеза у представителей различных семейств покрытосеменных растений. Однако не разработана эффективная система массового получения гаплоидов при культивировании мужских генеративных органов, не решены проблемы индукции и регенерации. Остаются неясными механизмы, обуславливающие смену программы развития микроспор с нормального пути созревания на вегетативный путь развития через эмбриоидо- и каллусогенез в гаплоидное растение. Крайне мало данных по изучению морфогенеза мужских генеративных органов голосеменных. Ряд исследователей отмечает, что непосредственными причинами морфогенеза являются физиолого-биохимические процессы, происходящие в индивидуальном развитии организма, в определенных условиях внешней среды. Одним из важнейших абиотических факторов, определяющих этапность онтогенеза и влияющих на фенотипическое проявление конкретного генотипа растения, являются низкие положительные температуры. Имеются данные о влиянии температурного фактора на становление полярности растительного организма, данный фактор используют как стрессор индукции андроклинии у покрытосеменных растений.

Цель данной работы: рассмотреть действие низких положительных температур на выход эмбриоидов.

В качестве объектов исследования использовали – 30-35- летние деревья лиственницы сибирской (*Larix sibirica*), которые разделены на две группы по фенотипическим и морфологическим данным. В первую группу вошли деревья пораженных лиственничной почковой галлицей. Пораженные деревья отличались от здоровых замедленным ростом и изреженной кроной, у таких деревьев, как показано Третьяковой И.Н., идет нарушение мужской сексуализации. Во вторую группу вошли деревья, непораженные лиственничной почковой галлицей. Использовали материнские клетки микроспор, которые находились на различных стадиях развития: в осенне-зимний период – на стадии профазы I. В весенний период в микроспороцитах обнаруживалась сильная асинхронность прохождения мейоза, что характерно для хвойных. В культуре *in vitro* в октябре месяце у непораженных деревьев большое количество материнских клеток микроспор находилось в анафазе I, а на 7 сутки культивирования появляются тетрады, на долю которых приходится около 90 %. В декабре, когда лиственница сибирская находилась в состоянии физиологического покоя, распределение микроспороцитов по фазам несколько иное. На 3 сутки большее количество микроспороцитов находилось на стадии метафазы I, однако на 14 сутки обнаружено 100 % образование микроспор покрытых тонкой экзиной. У растений, пораженных лиственничной почковой галлицей, отмечено в осенне - зимний период неравномерное распределение микроспороцитов по отдельным фазам мейоза и образование микроспор проходило медленнее. В весенние сроки культивирования у непораженных и пораженных деревьев лиственничной почковой галлицей у микроспороцитов происходило быстрое завершение мейоза. Показано, что пониженные положительные температуры оказывали стимулирующее воздействие на прохождение клетками процесса мейоза, микростробилы которых собраны в осенне – зимний и весенний периоды. Следует отметить, что у микростробил, собранных в данный период, уже на 3 сутки культивирования микроспороциты находились в анафазе I, в отличии от клеток, микростробилы которых не обработаны низкими положительными температурами. Существенную разницу наблюдали у непораженных и пораженных деревьев на 5 и 7 сутки культивирования. Образованные микроспоры имели тонкую экзину и к 14 суткам культивирования образовывали двух клеточное пыльцевое зерно, которое прорастало с образованием пыльцевой трубки.

Низкие положительные температуры оказывали существенное влияние на размеры микроспор. В осенне – зимний и весенний периоды на 3 сутки культивирования их размеры составили у деревьев, не пораженных лиственничной почковой 69,82 мкм, а у пораженных - 60,11 мкм. Такая же закономерность наблюдается на 5 и на 7 сутки культивирования. У микроспор, полученных таким путем, наблюдается тонкая экзина и деполаризация клетки.

Таким образом, низкие положительные температуры оказывают положительное влияние не только на прохождение мейоза, но и на размер образованных микроспор.

## Клеточные механизмы перестройки мезофилла листа как основа устойчивого фотосинтеза при затенении

Иванова Л.А., Ронжина Д.А., Иванов Л.А.

Ботанический сад УрО РАН. 8 Марта 202а, Екатеринбург, Россия  
[larissa.ivanova@botgard.uran.ru](mailto:larissa.ivanova@botgard.uran.ru)

Хорошо известно, что механизмы адаптации растений к затенению затрагивают разные уровни организации фотосинтетического аппарата – от пигментного комплекса до анатомического строения листьев. В то же время, лист представляет собой единую систему структурных, биохимических и биофизических условий для фотосинтеза. До настоящего времени остается неясным, какие именно параметры играют наиболее важную роль в перестройке листа при изменении режима освещения. Кроме того, тип структурно-функциональной перестройки листа может зависеть от свойств вида, например, теневые и световые виды могут различаться по направлению изменения площади и толщины листа при затенении. Нами проведен анализ варьирования показателей листа, мезофилла, интенсивности газообмена, содержания пигментов типичного тенелюбивого вида *Majanthemum bifolium* L. в разных типах сосновых насаждений в окрестностях г. Екатеринбурга в условиях от умеренного затенения светлого редкостойного леса до сильного затенения закустаренного леса с высокой плотностью древостоя. Во всех точках изучаемый вид присутствовал в высокой степени обилия в сообществе (0.1-0.3), что свидетельствует о его хорошей адаптации к условиям произрастания, которая была обусловлена перестройкой фотосинтетического аппарата. Большинство изученных листовых параметров изменялись в зависимости от условий произрастания. К мало изменчивым показателям с коэффициентом вариации 7-10% относились толщина листа, число хлоропластов в клетке, коэффициент формы клетки и содержание и отношения форм пигментов. Наибольшей степенью варьирования (35-40%) в зависимости от условий произрастания характеризовались объем клетки мезофилла и число клеток в единице площади листа. При этом размеры клеток и их количество изменялись в обратно пропорциональной зависимости - чем крупнее клетки мезофилла, тем меньше их количество в площади листа ( $r=-0.69$ ,  $p<0.05$ ). Показатели газообмена - интенсивность фотосинтеза и транспирации - и трехмерные параметры мезофилла – общая площадь поверхности клеток и хлоропластов имели средний уровень варьирования (23-27%). Анализ трехмерной структуры листа с помощью компьютерной технологии трехмерного моделирования мезофилла показал, что размеры и форма клеток мезофилла играли ведущую роль в оптимизации трехмерной структуры мезофилла и уровня поглощения  $\text{CO}_2$ . В условиях сильного затенения в закустаренном сосновом лесу размеры клеток у майника были почти вдвое меньше - 30-40 тыс.  $\text{мкм}^3$  против 60-70 тыс.  $\text{мкм}^3$ . Число клеток при этом было в 2 раза больше 70 тыс./ $\text{см}^2$  против 45 тыс./ $\text{см}^2$ . В условиях небольшого затенения клетки мезофилла не только были крупнее, но и их форма была сложнее - возрастала доля клеток с числом выростов больше 4. Увеличение затенения вызывало снижение максимальной интенсивности фотосинтеза, измеренной на плато световой кривой ( $p<0.05$ ), но это снижение было небольшим - 1.71  $\text{мкмоль}/\text{м}^2\text{с}$  по сравнению с 2.38  $\text{мкмоль}/\text{м}^2\text{с}$ , при этом скорость переноса  $\text{CO}_2$  через единицу поверхности мезофилла была постоянной. Поскольку интенсивность транспирации не изменялась в разных условиях произрастания, то ведущим фактором в регуляции фотосинтеза было не сопротивление устьиц, а изменение внутренней проводимости листа для  $\text{CO}_2$ . Не обнаружено различий в содержании фотосинтетических пигментов в единице площади листа и в единичном хлоропласте, но при сильном затенении выявлено их увеличение в единице массы листа. Также отмечено снижение отношения хлорофиллов a/b с 2.61 до 2.26. Таким образом, двукратное уменьшение размеров клеток при усилении затенения обусловило увеличение концентрации клеток и хлоропластов в листе, что в свою очередь привело к возрастанию концентрации хлорофилла в единице объема и массы листа, что способствует оптимизации световой абсорбции. С другой стороны, уменьшение размера клетки привело к увеличению отношения поверхность/объем мезофилла, что, согласно 2-му закону Фика, способствует увеличению скорости диффузии  $\text{CO}_2$  внутрь клеток. Наши исследования показали, что для выявления механизмов регуляции фотосинтеза недостаточно проводить измерения одного или двух параметров, а необходимо исследование всей системы ограничений фотосинтеза. Параметры клеточной "упаковки" мезофилла играют наиболее важную роль в оптимизации фотосинтеза у *M. bifolium* при адаптации фотосинтетического аппарата к затенению.

## Некоторые особенности реакции растений огурца на действие закаливающей и повреждающей температуры

Игнатенко А.А., Таланова В.В., Репкина Н.С., Титов А.Ф.

ИБ КарНЦ РАН. Пушкинская ул., 11, Петрозаводск, Россия  
[angelina911@ya.ru](mailto:angelina911@ya.ru)

В условиях контролируемой среды изучали особенности ответной реакции растений огурца на действие низких закаливающей и повреждающей температур. С этой целью недельные проростки огурца (*Cucumis sativus* L.) гибрида F1 Зозуля подвергали в течение 3 сут действию температуры 12 или 4°C, соответственно. О холодоустойчивости растений судили по изменению выхода электролитов из тканей листьев. Накопление сырой и сухой биомассы растений определяли в соответствии со стандартной методикой. Уровень перекисного окисления липидов анализировали по содержанию малонового диальдегида (МДА), содержание пролина – методом Бейтса с соавторами, активность супероксиддисмутазы (СОД) – по способности фермента ингибировать фотохимическое восстановление нитросинего тетразолия. Содержание белка анализировали методом Бредфорда, накопление транскриптов генов – методом ПЦР в режиме реального времени. Контрольные растения находились в исходных условиях (при температуре воздуха 22°C, его относительной влажности 60–70%, освещенности около 10 клк и 14-часовом фотопериоде).

Проведенные исследования показали, что характер реакции растений огурца на низкотемпературное воздействие существенным образом зависит от его интенсивности. Так, например, температура 12°C первоначально (1–24 ч) вызывала повышение выхода электролитов из клеток листьев, однако в дальнейшем наблюдалось его снижение до исходных значений. При действии температуры 4°C увеличение выхода электролитов зафиксировано не только в первые, но и в последующие часы эксперимента. Причем к концу воздействия (3 сут) выход электролитов из клеток листьев превышал исходный уровень примерно в 9 раз.

Различие в ответной реакции растений на низкотемпературные воздействия разной интенсивности зафиксировано и при изучении ростовых процессов. В частности, при действии температуры 12°C торможение процесса накопления сырой и сухой биомассы листьев отмечено в течение 2 сут, но затем оно сменялось постепенным восстановлением ростовых процессов. При действии температуры 4°C подавление процесса накопления сырой и сухой биомассы листьев огурца наблюдалось в течение всего эксперимента.

Анализ динамики накопления МДА в листьях огурца выявил, что температура 12°C приводит к небольшому повышению его уровня на 2–3-и сутки охлаждения. В отличие от этого, при температуре 4°C содержание МДА увеличивалось на протяжении всего эксперимента и было значительно выше, чем при 12°C.

Установлено также, что температура 12°C вызывала повышение активности фермента СОД и накопление транскриптов генов *MnSOD* и *Cu/ZnSOD*, кодирующих ее разные изоформы. В условиях действия температуры 4°C активность СОД первоначально (1–5 ч) увеличивалась, однако в дальнейшем отмечено ее снижение. Содержание транскриптов гена *MnSOD* уже в первые часы действия 4°C снижалось и на протяжении всего эксперимента было существенно ниже исходных значений. Накопление мРНК гена *Cu/ZnSOD* при этой температуре обнаружено только после суточной экспозиции.

Помимо этого нами было изучено влияние температуры 12 и 4°C на аккумуляцию низкомолекулярного протекторного соединения – свободного пролина, которое в обоих случаях выявило повышение его уровня в клетках листьев. Но значительно выше содержание пролина было в клетках растений, подвергнутых воздействию температуры 4°C.

Таким образом, из полученных данных следует, что в зависимости от интенсивности низкотемпературного воздействия характер и динамика изученных физиолого-биохимических показателей может изменяться как количественно, так и качественно. Низкая закаливающая (12°C) и повреждающая (4°C) температуры в начальный период действия вызывают торможение процесса накопления сырой и сухой биомассы семядольных листьев, увеличение в них активности СОД и повышение содержания мРНК кодирующих ее генов, аккумуляцию свободного пролина и МДА. Увеличение экспозиции до 3 сут в условиях закаливающей температуры (12°C) сопровождалось частичным возобновлением ростовых процессов, дальнейшим повышением активности СОД и содержания транскриптов генов *Cu/ZnSOD* и *MnSOD*, накоплением свободного пролина, что способствовало повышению холодоустойчивости растений. В отличие от этого, воздействие повреждающей температуры (4°C) приводит к необратимому подавлению процесса накопления сырой и сухой биомассы листьев, резкому увеличению уровня МДА и содержания свободного пролина, а также сопровождается уменьшением активности СОД, что ведет к снижению холодоустойчивости, повреждению и, в конечном итоге, к гибели растений.

**Синтетическая последовательность 5'-НТО увеличивает уровень экспрессии генов в растениях**

*Кабардаева К.В. \*, Мустафаев О.\*\*\*, Садовская Н.С. \*, Фадеев В.С. \*, Бердичевец И.Н. \*, Тюрин А.А. \* \*\*,  
Голденкова-Павлова И.В. \**

\* ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва

\*\* Российский государственный аграрный университет - МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва

\*\*\* Бакинский государственный университет. Академика Захида Халилова ул., 23, Баку, Азербайджан  
[kabardaewa@yandex.ru](mailto:kabardaewa@yandex.ru)

Известно, что экспрессия генов может регулироваться дополнительными последовательностями, например, так называемыми, CpG-островками. CpG-островки представляют собой области размером от 200 п.н. и выше, с CG составом выше 50% и долей наблюдаемого/ожидаемого соотношения динуклеотидов CG выше 0,6. Эти регуляторные области часто ассоциированы с промоторами и/или первыми экзонами генов эукариот, в том числе и генов домашнего хозяйства. И хотя известно, что многие CG-богатые последовательности в геномах эукариот подвергаются инактивации за счет метилирования, но CpG-островки остаются транскрипционно активными. Разнообразие функций и противоположных эффектов, в частности, CpG динуклеотидов в регуляторных и кодирующих областях генов эукариот позволяет сделать предположение о том, что они могут играть ключевую роль в регуляции экспрессии генов.

Нами были проведены исследования, направленные на выяснение роли нуклеотидного состава 5'-области гена на эффективность экспрессии репортерного гена термостабильной лихеназы в растениях.

Сконструирована синтетическая последовательность, которая содержит характерные для 5'-области генов растений CG-богатые мотивы, выявленные на основании *in silico* анализа 5'-областей генов растений. Получены линии трансгенных растений табака, в которых репортерный ген термостабильной лихеназы находится под контролем конститутивного промотора 35S РНК CaMV и дополнительного регуляторного элемента: синтетической CG-богатой последовательности, которая функционирует как 5'-НТО (нетранслируемая область) мРНК репортерного гена, или как 5'-область кодирующей последовательности гибридного гена, в котором синтетическая последовательность слита в рамке считывания с последовательностью репортерного гена. Результаты сравнительного анализа уровня мРНК и уровня белкового продукта в полученных линиях трансгенных растений показали, что синтетическая CG-богатая последовательность достоверно увеличивает уровень транскрипции репортерного гена и, по всей видимости, не оказывает негативного влияния на эффективность трансляции мРНК репортера, что может быть обусловлено особенностями ее нуклеотидного состава и структуры, а именно, наличием специфических для 5'-областей генов растений мотивов и свойствами вторичной структуры – отсутствием шпилечных структур с высокой энергией их образования. Таким образом, получены экспериментальное подтверждение, что 5'-области генов с высоким содержанием динуклеотидов CpG, могут способствовать увеличению уровня транскрипции и трансляции генов у растений.

## **Влияние физиологически активных соединений гормональной природы на биохимические особенности корней винограда**

*Казахмедов Р.Э., Магомедова М.А.*

ФГБУН Дагестанская селекционная опытная станция виноградарства и овощеводств, 368601, ул. Вавилова, 9,  
Дербент, Дагестан, Россия  
[dsosvio@mail.ru](mailto:dsosvio@mail.ru), [kre\\_05@mail.ru](mailto:kre_05@mail.ru)

Филлоксера является одной из острых проблем в виноградарстве. Поэтому изучение вопросов, связанных с выяснением природы филлоксероустойчивости виноградного растения, помимо теоретического, имеет практический интерес, так как служит научным обоснованием к решению задачи повышения устойчивости ценных сортов винограда к данному вредителю. В задачи нашей работы входило исследование некоторых физиолого-биохимических факторов, в частности, биохимические особенности корневой системы винограда (содержание аминокислот, фенольных веществ; гликозидов, углеводов, ферментов). При решении поставленной перед нами задачи мы исходим из гипотезы, что развитие фитофагов (в т.ч. филлоксеры) определяется составом сока корней и предполагаем возможность изменения его биохимического состава в сторону повышения содержания инсектоакарицидных веществ (некоторые аминокислоты, гликозиды, фенольные вещества) путем физиологического (гормонального) воздействия на надземную часть виноградного растения, что в итоге может снизить потенциал размножения филлоксеры. Объект исследований: сорта Агадаи (восприимчивый), Первенец Магарача (контроль, толерантный), подвойный сорт Кобер 5ББ (эталон, устойчивый). Проводится обработка (опрыскивание) вегетирующих корнесобственных модельных растений растворами ФАС цитокининового, ауксинового и трофического действия при достижении побегом длины 20 – 25 см. Повторность 3-х кратная - три повторности по 10 растений. Биохимический анализ элементов корневой системы модельных растений показал, что содержание в них биологически активных веществ различно, в зависимости от степени устойчивости сорта к филлоксере, и, что важно отметить, изменяется под влиянием внекорневого применения ФАС гормонального действия. Таким образом, подтверждается наша гипотеза о том, обработка листовой поверхности растений винограда растворами ФАС может способствовать изменению биохимического состава корней. На данном этапе исследований нам было важно выявить, как различаются исследуемые сорта по содержанию биологически активных веществ и как влияет на их изменение обработка ФАС, а также какие ФАС позволяют изменить биохимический состав корней в нужном нам направлении. Исследования показали, что чем более устойчив сорт к филлоксере, тем ниже содержание фенолкарбоновых кислот. Важно отметить, что такая картина прослеживается как в период вегетации, так и в конце ее. Оказалось, что из испытуемых ФАС препарат ауксинового действия снижал содержание фенолкарбоновых кислот в корнях сорта Агадаи до величин характерных корням толерантного сорта Первенец Магарача. Толерантные сорта также имеют меньшее содержание углеводов в элементах корневой системы, особенно, выделяется сорт Первенец Магарача. В целом, толерантный к филлоксере сорт Первенец Магарача имеет большее содержание аминокислот в корнях и совместное применение всех трех испытуемых ФАС увеличивает их содержание еще в большей степени. Также анализ содержания изученных биологически активных веществ в корнях и изменения их после обработки ФАС позволяют нам предположить, что биологическая основа толерантности (Первенец Магарача) и устойчивости, близкой к абсолютной (Кобер 5ББ) имеет различную природу. На данном этапе исследований установлена принципиальная возможность положительного воздействия на развитие корневой системы винограда и жизнеспособность угнетенных филлоксерой растений путем обработки листовой поверхности вегетирующих растений, а также перспективность изучаемых физиологически активных соединений в повышении устойчивости винограда к корневой форме филлоксеры.

**Физиолого-биохимические особенности проростков кукурузы при предобработке семян различного качества плазменно-волновым воздействием***Калацкая Ж.Н., Ламан Н.А., Фролова Т.В., Филатова И.И.\* , Люшкевич В.А.\**

Институт экспериментальной ботаники НАН Беларуси, Академическая ул., 27, Минск, Беларусь

\*Институт физики НАН Беларуси, Независимости пр., 68, Минск, Беларусь

[kalatskayaj@mail.ru](mailto:kalatskayaj@mail.ru)

В последние годы активно развиваются способы предпосевной обработки семенного материала, основанные на воздействии электромагнитных полей и низкотемпературной плазмы электрических разрядов в газах или жидкостях. Перспективность их использования в сельском хозяйстве обусловлена высокой биологической активностью электромагнитных полей и специфическими свойствами неравновесной «холодной» плазмы. При этом, отдельные режимы плазменно-волнового воздействия, вероятно, могут являться индукторами, которые вызывают сенсбилизацию защитных механизмов растений и проявляются в последствии в активации неспецифической устойчивости в ответ на действия биотических и абиотических стрессоров. Использование плазменно-волнового воздействия целесообразно как в системах интегрированной защиты растений, так и в технологиях возделывания сельскохозяйственных культур без применения или при ограниченном применении химических средств защиты. В настоящей работе изучено действие трех режимов плазменно-радиоволновой обработки на всхожесть семян, морфологические параметры, содержание пролина и активность пероксидазы у проростков кукурузы, выращенных из семян, подвергнутых действию неблагоприятных условий хранения различной продолжительности. Семена кукурузы гибрида «Полесский 212 СВ», были обработаны режимами высокочастотного (ВЧ) электромагнитного поля (ВЧ ЭМП) – 15 мин при атмосферном давлении, ВЧ плазмы 1 – 4 мин при давлении 200 Па и ВЧ плазмы 2 – 4 мин при давлении 200 Па в условиях формирования в плазменном объеме звукового поля на частоте 110 Гц. Одну часть семян выдерживали в благоприятных условиях (контроль), другую часть использовали в тесте на устойчивость к высокой температуре и влажности воздуха - ускоренное старение (контролируемые неблагоприятные условия хранения). При проведении теста на ускоренное старение семена кукурузы размещали над насыщенным раствором хлористого натрия и выдерживали 3-е суток – «умеренный стресс» или 7 суток – «сильный стресс» при температуре 50°C и 75%-ной влажности воздуха. В оптимальных условиях хранения стимуляция роста и развития проростков по большинству измеренных параметров отмечена в вариантах обработки ВЧ ЭМП и ВЧ плазма 2, обработка семян ВЧ плазма 1 не оказывала значимого влияния на морфометрические показатели проростков. Плазменно-радиоволновые обработки во всех режимах вызвали увеличение активности растворимой пероксидазы в проростках, в то время как содержание пролина существенно не изменялось, за исключением его снижения в корнях в варианте обработки ВЧ ЭМП. Применения режимов ВЧ плазма при последующем ускоренном старении семян усугубляло развитие стресса у растений, а обработка семян ВЧ ЭМП способствовала формированию стресс-толерантных проростков. При умеренном стрессе (ускоренное старение 3-е суток) обработка ВЧ ЭМП способствовала поддержанию качества семян кукурузы: значения удельной электропроводности экссудатов из семян оставались на уровне оптимального контроля, по отдельным морфо-физиологическим показателям проростки из вариантов с обработкой превосходили растения контрольного варианта, где семена не подвергались стрессовым воздействиям. Содержание пролина увеличилось в корнях и снизилось в листьях при использовании режимов ВЧ плазма по отношению к проросткам из стрессового контроля, однако при применении ВЧ ЭМП содержание пролина практически соответствовало его количеству, измеренному в проростках из оптимального контроля. Активность пероксидазы во всех вариантах обработки оставалась выше, чем у растений из стрессового контроля. При нарастании продолжительности действия стрессора (ускоренное старение до 7 суток) физиологическое качество семян, обработанных ВЧ ЭМП, ухудшалось наравне с контрольными, а при обработке режимами ВЧ плазма значительно снижалось. Предварительная обработка режимами ВЧ плазма привела возрастанию удельной электропроводности и снижению всхожих семян практически в 2 раза, при одновременном значительном торможении роста и развития выживших проростков. В этом случае проявлялась иная стратегия адаптации растений. Содержание пролина в корнях проростков из контроля и варианта с обработкой ВЧ ЭМП выросло на 58,6% и 51,8% соответственно в сравнении с данным показателем оптимального контроля, а при обработке семян ВЧ плазмой в двух режимах оно выросло практически в 3 раза по сравнению с контролем. Активность пероксидазы в клетках корней проростков из опытных вариантов снизилась за исключением варианта с режимом обработки ВЧ плазма 1, у которого активность фермента сохранялась на уровне оптимального контроля. При обработке семян ВЧ ЭМП активность пероксидазы соответствовала активности фермента в корнях стрессового контроля, а действие режима ВЧ плазма 2 вызвало снижение активности фермента на 42,4%. Таким образом, из исследованных режимов плазменно-радиоволновой обработки семян - высокочастотное электромагнитное поле – 15 мин при атмосферном давлении (ВЧ ЭМП), вероятно, может выступать индуктором неспецифической устойчивости, обеспечивая сохранение физиологического качества семян при хранении и способствуя, в зависимости от продолжительности действия стрессора, поддержанию скорости роста растений или их выживанию.

Работа поддержана грантом БРФФИ № Б16РА-014.



## Структурно-функциональная адаптация фотосинтетического аппарата берез к условиям золоотвалов тепловых электростанций

Калашикова И.В., Мигалина С.В., Иванова Л.А., Иванов Л.А.

Ботанический сад Уральского отделения РАН, ул. 8 Марта, 202 а, Екатеринбург, Россия  
[iren.kalachnikova@gmail.com](mailto:iren.kalachnikova@gmail.com)

В крупных промышленных регионах актуальной проблемой остается снижение негативного влияния на природные экосистемы, в том числе за счет биологической рекультивации техногенных ландшафтов. Научной основой разработки эффективных методов восстановления растительных сообществ на нарушенных территориях является изучение механизмов адаптации растений к техногенным субстратам. Адаптация растений в значительной степени обусловлена изменением структурно-функциональных параметров фотосинтетического аппарата под воздействием внешних факторов.

Золошлакоотвалы тепловых электростанций относятся к особой категории техногенных ландшафтов, не имеющих аналогов в природе. Негативными факторами, ограничивающими развитие растительности и микробиоты на золоотвалах, являются высокая щелочность зольного субстрата, значительные концентрации тяжелых металлов и растворимых солей, низкое содержание основных элементов питания, нестабильность температурного и водного режимов.

Целью наших исследований было изучение закономерностей изменения структурно-функциональных параметров листового аппарата берез (*Betula pendula* Roth и *B. pubescens* Ehrh.) в фитоценозе, формирующемся путем самозарастания на золоотвале Рефтинской ГРЭС (Свердловская область). В качестве контроля был выбран участок леса, расположенный вблизи золоотвала. Для определения листовых параметров в каждом сообществе с 20 деревьев отбирались полностью сформированные листья с укороченных побегов из нижней, хорошо освещенной части кроны. Определяли площадь, толщину, коэффициент формы и удельную поверхностную плотность листа (УППЛ). На 5 модельных деревьях с помощью газоанализатора Li-6400XT («Li-COR», США) измеряли максимальную интенсивность фотосинтеза и транспирации, также была рассчитана эффективность использования воды. Анализ содержания в золе Рефтинской ГРЭС доступных для растений форм основных элементов питания показал предельно низкое содержание азота (0,0005 %) и калия (0,003 %), и достаточно высокое содержание фосфора (0,010 %) по сравнению с зональными почвами на участке леса.

Обнаружено, что березы, произрастающие на золоотвале, имели более высокую интенсивность фотосинтеза на единицу площади листа, по сравнению с контрольными условиями, при этом интенсивность транспирации изменялась незначительно. У берез, произрастающих на зольном субстрате, отмечено повышение эффективности использования воды, особенно у *B. pendula*.

На зольном субстрате у исследованных видов увеличилась толщина и удельная поверхностная плотность листа (УППЛ). У двух видов найдена прямая положительная связь между УППЛ и интенсивностью фотосинтеза (у *B. pendula*  $r = 0.77$ ,  $p < 0.05$ ; у *B. pubescens*  $r = 0.83$ ,  $p < 0.05$ ), а также между толщиной листа и интенсивностью фотосинтеза (у *B. pendula*  $r = 0.86$ ,  $p < 0.05$ ; у *B. pubescens*  $r = 0.76$ ,  $p < 0.05$ ). Не отмечено закономерных изменений для размеров и формы листовой пластинки берез в зависимости от условий произрастания, однако эти параметры четко различались между видами: у *B. pubescens* были более высокие значения площади листа, а у *B. pendula* – коэффициента формы.

Исследования распределения биомассы 14-летних деревьев показали, что на зольном субстрате у *B. pendula* и *B. pubescens* происходят изменения параметров фотосинтезирующего аппарата на уровне целого организма, связанные с увеличением относительной площади (LAR) и относительной массы листьев. Эти изменения означают, что в условиях золоотвала поддержание устойчивого роста требует не только повышения интенсивности фотосинтеза единицы площади листа, но и формирования значительной ассимилирующей поверхности всего дерева. Работа поддержана РФФИ № 15-04-06574.

## Специфические и неспецифические изменения оптических характеристик листьев яровой пшеницы при дефиците азота и умеренной почвенной засухе

*Канаши Е.В., Русаков Д.В., Осипов Ю.А., Кравцова А.В.*

Агрофизический научно-исследовательский институт. Гражданский просп., 14, Санкт-Петербург, Россия  
[ykanash@yandex.ru](mailto:ykanash@yandex.ru)

Биохимические и структурные изменения листьев, происходящие под влиянием неблагоприятных факторов среды, сопровождаются изменением их оптических характеристик, которые могут быть зарегистрированы до появления внешних симптомов угнетения и повреждения растений. Дистанционный мониторинг посева основан на учете изменений, как спектральных характеристик отраженной радиации видимого диапазона, так и степени проективного покрытия почвы, обеспечивая возможность количественной оценки роста растений. Неравномерные запасы воды по полю могут существенно повлиять на усвоение растениями питательных элементов и исказить результаты дистанционной диагностики потребности растений в удобрении и его дозе. Эффективность оценки азотного и водного статуса растений дистанционными методами зависит от развития методов и выявления критериев, которые позволяют в реальном времени не только выявить ухудшение физиологического состояния растений, но и распознать стрессор, вызвавший их угнетение. Цель данной работы – исследовать особенности оптических характеристик листьев пшеницы при водном дефиците на фоне разной обеспеченности растений азотом и оценить степень изменения спектральных характеристик отраженной радиации в ответ на действие каждого из стрессоров. Растения пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Красноуфимская 100 выращивали в светоустановках с лампами ДНаТ 400 в сосудах емкостью 3 литра, наполненных дерново-подзолистой почвой с содержанием нитратного азота 18,2 мг/кг и аммонийного азота 34,6 мг/кг. Облученность в области ФАР на уровне верхних листьев  $50 \pm 5$  Вт/м<sup>2</sup>, фотопериод 16 часов. Опыт включал два варианта: без дополнительного удобрения (низкий уровень азотного питания) и с 3-кратным внесением удобрения (высокий уровень азотного питания). В последнем случае перед посевом была внесена мочевина в количестве 0,107 мг/кг почвы. Еще два дополнительных внесения азота в той же дозе были выполнены в период кущения и по завершении трубокования. Влажность почвы до стадии трубокования была равна 80% от полной полевой влагоемкости (ППВ) - контроль. Растения были подвергнуты действию почвенной засухи (7 суток) в период от завершения трубокования до начала колошения. Влажность почвы опытных растений в этот период поддерживали равной 30% и 50% ППВ. Работа выполнена в контролируемых условиях агрополигона АФИ, чтобы исключить влияние других неблагоприятных факторов среды. Спектры отраженной от листьев радиации регистрировали по завершении действия почвенной засухи *in situ* с помощью спектрометрической системы фирмы Ocean Optics (США), которая обеспечивает оптическое разрешение 0.065 нм в диапазоне от 300 до 1000 нм с шагом 0,3 нм. Степень влияния дефицита азота или почвенной засухи определяли по изменению индексов отражения (хлорофилла, антоцианов, флавонолов, каротиноидов, водной полосы и др.), величина которых тесно связана с содержанием соответствующих пигментов, соединений и/или структуры листа. Сила факторного эффекта  $\eta^2$  (дефицита азота и воды) определена в процентах как отношение соответствующей суммы квадратов отклонений изучаемых оптических показателей от их средних значений к общей сумме квадратов. Почвенная засуха и дефицит азота вызвали увеличение отражающей способности листьев во всем спектральном диапазоне измерения, при действии засухи наиболее значительно в ближней инфракрасной области. Спектральные характеристики отраженной от поверхности листьев радиации при дефиците азота и почвенной засухе существенно отличались. Коэффициент корреляции между содержанием воды в листьях и их отражающей способностью наиболее высок в диапазоне 380-400 нм ( $r = -0.65$ ,  $p < 0.05$ ) и 760-1000 нм ( $r = 0.67$ ,  $p < 0.01$ ) между содержанием азота в почве и отражающей способностью листьев в диапазоне 405-445 нм ( $r = 0.65$ ,  $p < 0.01$ ), 510-645 нм ( $r = -0.8$ ,  $p < 0.01$ ) и 695-730 нм ( $r = -0.8$ ,  $p < 0.01$ ). Сила факторного влияния ( $\eta^2$ ) на индекс хлорофилла была равна 20% и 4% при дефиците азота и воды соответственно. Наибольшее влияние засуха оказала на индексы воды ( $\eta^2 = 55\%$ ) и рассеяния света, обусловленное изменением структуры листа ( $\eta^2 = 28\%$ ). Эти параметры при низком уровне азотного питания незначительно отличались от контроля ( $\eta^2 = 2\%$ ). Отличия в реакции растений на недостаток азота и почвенной влаги можно также наблюдать, сравнивая значения индексов, величина которых тесно связана с содержанием каротиноидов и антоцианов, а также по степени их изменения при дефиците азота и воды. Обнаружено, что сила влияния почвенной засухи на индекс каротиноидов (15%), антоцианов (9%) существенно превышает силу влияния дефицита азота (1-2%). Действие каждого из неблагоприятных факторов вызвало усиление тепловой диссипации и накопление флавонолов:  $\eta^2$  при засухе соответственно равны 30 и 20%, при дефиците азота -15 и 12%. Существенные различия оптических характеристик растений при дефиците азота и воды свидетельствуют о хороших перспективах для создания технологий дистанционного мониторинга агрофитоценозов, позволяющих не только обнаружить участок посева с угнетенными растениями, но и выявить стрессор, действие которого стало причиной угнетения. Дальнейшие исследования должны охватывать аспект, когда нехватка воды может быть обнаружена путем измерения спектральных характеристик отраженной радиации до того, как произойдет значительное необратимое ингибирование роста.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ 16-04-00311-а.

**Подбор коллекционных штаммов ризосферных бактерий и природных изолятов для повышения эффективности метода микроклонального размножения картофеля *in vitro***

**Каргаполова К.Ю., Ткаченко О.В., Бурыгин Г.Л. \*, Евсеева Н.В. \***

Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова, Театральная пл.,1, Саратов, Россия

\*Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Энтузиастов пр., 13, Саратов. Россия

[kinaschchri@mail.com](mailto:kinaschchri@mail.com)

Азотфиксирующие ризосферные микроорганизмы используются для усиления роста и повышения адаптационной способности микрорастений, стерильно выращенных в культуре *in vitro*. Ранее нами установлено достоверное положительное влияние на рост микрорастений картофеля в культуре *in vitro* бактерий *Azospirillum brasilense* Sp245.

Целью данного исследования было изучение коллекционных ризосферных бактерий и природных изолятов для создания эффективных ассоциаций с микрорастениями картофеля в культуре *in vitro*.

Материалом для исследований служили штаммы ризосферных микроорганизмов родов *Achromobacter*, *Azospirillum*, *Enterobacter*, *Niveispirillum*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* из коллекции ИБФРМ РАН, а также оригинальные изоляты, выделенные из корней картофеля сортов Невский и Кондор.

Микрочеренки картофеля сортов Невский и Кондор помещали на питательную среду Мурасиге и Скуга без гормонов и инокулировали суспензией бактерий в концентрации  $10^6$  кл/мл. На первом этапе в течение 10 суток проводили оценку штаммов на фитотоксичность. Затем, отобранные штаммы проверяли на стимуляцию роста растений. Для этого через каждые 10 суток культивирования оценивали морфометрические показатели микрорастений. Весь период совместного культивирования продолжался 30 суток. В качестве основного контроля были использованы стерильные микрорастения, в качестве положительного контроля – микрорастения, инокулированные штаммом *Azospirillum brasilense* Sp245.

Установлено, что только коллекционные штаммы бактерий *Azospirillum brasilense* Sp7, Sp245, S27, SR80, SR88 в условиях *in vitro* благоприятно влияли на ростовые процессы микрорастений. Инокулированные растения имели достоверные положительные отличия от контрольных вариантов по длине побега в течение всего эксперимента.

Опыты по выделению природных изолятов ризосферных бактерий из корней картофеля были начаты в 2012 году. Полученные изоляты проверялись на способность создавать активную ассоциацию с микрорастениями картофеля в культуре *in vitro*. Одиннадцать изолятов оказывали фитотоксичное действие при совместном культивировании с микрорастениями картофеля. Семь изолятов достоверно не оказывали влияния на рост побегов или корней. Было выделено два изолята, существенно стимулировавших рост микрорастений, в том числе количество узлов на побеге. При этом, в отличие от штамма *A. brasilense* Sp245, изолят IPA7.2 лучше стимулировал рост растений на этапе адаптации к условиям выращивания в почве. В связи с этим провели подбор методик инокуляции микрорастений. Установлено, что оптимальная концентрация бактерий для инокуляции –  $10^6$  кл/мл питательной среды, лучший срок внесения бактерий в пробирки – 15-е сутки после микрочеренкования.

В настоящее время продолжается изучение изолятов, выделенных позднее. Обнаружены перспективные изоляты, оказывающие благоприятное влияние на рост растений картофеля, сопоставимое по уровню воздействия коллекционному штамму *A. brasilense* Sp 245.

Таким образом, для повышения эффективности метода микроклонального размножения картофеля могут успешно использоваться как известные коллекционные штаммы ризосферных азотфиксирующих бактерий, так и природные изоляты. Выработаны общие и специфические для каждого штамма подходы к методике инокуляции микрорастений. Полученные результаты могут быть использованы для повышения эффективности метода микроклонального размножения растений в культуре *in vitro*, применяемого в системе семеноводства картофеля на оздоровленной основе.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ № 16-34-00720.

## Адаптация оптических свойств и структуры побега проростков пшеницы к световому фактору

*Касаткин М.Ю.*

Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского. Астраханская ул., 83, Саратов, Россия  
[hanin-hariton@yandex.ru](mailto:hanin-hariton@yandex.ru)

Воздействие светового потока на растение в современном понимании оценивается с нескольких позиций: 1) свет является источником энергии; 2) быстроменяющимся информативным фактором внешней среды. Световое воздействие зависит от оптических свойств растительных тканей, изменяющихся в процессе онтогенеза.

С момента прорастания зерновки в условиях этиоляции в верхушке coleoptily (300 мкм) цитофотометрическим методом выявлено несколько пиков поглощения в разных участках спектра: в синем - 410, 430, 450 и 470 нм (с наиболее характерным из них в области 450 нм); в желто-зеленом - 510 и 530 нм; в красном - 660 нм. Наибольшей чувствительностью обладают первые 100 мкм верхушки coleoptily, в нижележащих зонах чувствительность к свету падает экспоненциально. В средней части coleoptily, где хорошо выражена паренхима, установлено различие между ней и проводящими пучками по поглощению в видимой части спектра. В частности, паренхимные клетки средней части coleoptily имеют незначительные максимумы поглощения при 470 и 500 нм, тогда как проводящие пучки обладают единственным максимумом поглощения при 460 нм. При отсутствии света развитие эпикотили наблюдалось на 6-е сутки с момента замачивания семян. В это время coleoptиль продолжал рост и прорывался на 9-е сутки первым зародышевым листом.

Определение в ходе исследований средней оптической плотности тканей coleoptily и эпикотили в синей (400-490 нм), желто-зеленой (500-590 нм) и красной (600-700 нм) областях видимой части спектра позволило изучить дальнейшее развитие пигментных систем тканей указанных органов. В период со 2-й по 9-й день роста coleoptily, проявляющееся в увеличении его линейных размеров преимущественно в длину и дифференциации клеток, представленных в нём, вначале наблюдалось уменьшение оптической плотности в синей области спектра в верхушке coleoptily (от 2,559 до 0,619) с последующим возрастанием до 1,478 в момент прорыва первым листом. В красной области спектра характер изменения оптической плотности сходен с описанными изменениями в синей области спектра - уменьшение с 1,396 до 0,383 с последующим возрастанием до 0,977. Таким образом, нами отмечено, что верхушка coleoptily обнаруживает периодические изменения оптической плотности во всех участках спектра в процессе прорастания, с максимумом поглощения в синей области спектра. Максимальное различие между изучаемыми областями спектра отмечается на 2 день от замачивания семян. В дальнейшем оптическая плотность начинает выравниваться по всем участкам спектра. На 9-е сутки с момента начала опыта различия в оптической плотности в желто-зеленой и красной участках спектра исчезают, что, по-видимому, связано с прорывом coleoptily первым листом и запуском процессов апоптоза.

Столь раннее развитие различий в оптических характеристиках coleoptily связано прежде всего с окончившейся к моменту прорастания дифференциацией тканей верхушки с последующей активацией в ней пигментных систем. Волнообразное изменение оптических характеристик в отсутствие ростовой активности в этой зоне coleoptily может свидетельствовать о реализации алгоритма случайного поиска светового сигнала в условиях этиоляции.

В средней части coleoptily отмечено существенное увеличение оптической плотности в синей области спектра в проводящих тканях (от 0,842 до 2,197). Указанная часть coleoptily обнаруживает более высокую оптическую плотность по сравнению с верхушкой. На 2-е сутки от момента прорастания оптическая плотность этой части coleoptily одинакова по всем спектральным интервалам в пределах ошибки. При дальнейшем росте в красной области спектра coleoptиль становится менее оптически плотным относительно других участков спектра. Оптическая плотность проводящего пучка в начале опыта меньше, чем близлежащих клеток паренхимы. В дальнейшем эта характерная картина изменяется – оптическая плотность проводящего пучка в среднем в 2 раза превышала плотность паренхимных клеток во всех областях спектра. В этот же период роста в паренхиме coleoptily отмечено возрастание оптической плотности: в синей области спектра - от 0,744 до 1,143; в желто-зеленой - 0,577 - 0,885; в красной - от 0,393 до 0,829. Максимальное пропускание света проводящим пучком относительно паренхимных клеток указывает на сформированность системы восприятия света к моменту прорастания семени. Изменение оптической плотности обусловлено ростовой активностью и, главным образом, изменением ультраструктуры клеток. В частности, развитие центральной вакуоли и пристеночное положение цитоплазмы в паренхимных клетках при их растяжении позволяет увеличить их светопроведение, что сказывается на уменьшении оптической плотности указанной ткани.

Таким образом, в процессе роста побега пшеницы и адаптации его к свету наблюдаются изменения как спектральных характеристик, так и оптической плотности тканей coleoptily и эпикотили. Специфика роста coleoptily, как структуры ограниченного роста с максимально дифференцированной верхушечной частью, объясняет изменение его пигментных систем в верхушке преимущественно их перестройкой, тогда как к его основанию за счёт изменения вектора ростовой активности.

## Перспективы развития ...омикс технологий как нового этапа биотехнологии растений в пост-геномную эру

*Кершанская О.И., Нелидова Д.С.\* , Лозовая В.В.\* , Зернова О.В.\* , Лыгин А.В.\* , Видхолм Дж.М.\**

Институт биологии и биотехнологии растений КН МОН РК, ул. Тимирязева, 45, Алматы, 050040, Казахстан  
\*Университет Иллинойса в Урбане-Шампэйн, Эдвард Р. Мэдиган Лаборатория, Урбана, 61801, Иллинойс, США  
[gen\\_o.kersh@mail.ru](mailto:gen_o.kersh@mail.ru)

Следующее поколение биотехнологических культур обещает включить в себя широкий спектр продуктов, которые обеспечат преимущества как для фермеров, так и потребителей, с целью удовлетворения глобальных сельскохозяйственных проблем. Эти продукты, скорее всего, будут связаны с регулированием ключевых эндогенных путей в растениях и приведут к улучшению количественных признаков, таких как качество, фотосинтез, устойчивость к биотическим и абиотическим стрессам. Появление новых ...omics технологий - таких как геномика, протеомика и метаболомика, теперь позволяет исследователям идентифицировать генетику реакций растений на стресс. На сегодняшний день успехи в генетическом улучшении устойчивости растений к стрессам среды обитания включают манипуляции одним или несколькими генами, вовлеченными в сигнальные/регуляторные пути, или кодирующими ферменты, участвующие в ключевых метаболических путях. В последние годы в различных превосходных обзорах обобщены современные знания о структуре генов, участвующих в фенилпропаноидном цикле, в частности, в биосинтезе лигнина и флавоноидов, регуляции транскрипционных факторов, гормональном контроле основных метаболических путей жасмонатами или ауксинами и эволюции генов ключевых метаболических путей первичного метаболизма. Генная инженерия ключевых метаболических путей в сочетании с ...омикс технологиями является мощным инструментом улучшения сельскохозяйственных культур путем развития биотехнологии нового этапа в пост-геномную эру. Болезни сои во всем мире являются одной из серьезных проблем, снижающих урожай сельскохозяйственных культур до 11% - 30% от общего объема производства. Во многих странах контроль болезней сои ограничивается только сельскохозяйственными технологиями. Основной идеей нашего исследования является улучшение природной естественной устойчивости сои к биотическим стрессам с помощью генной инженерии фенилпропаноидного цикла, а именно - введение в сою ключевых генов, вовлеченных в биосинтез лигнина, - соединения, участвующего в широком круге физиологических процессов, таких как рост растений, водный обмен, а также обеспечивающего непроницаемость клеточных стенок - натуральный механический барьер для защиты растений от проникновения патогенов. Предлагаемый подход борьбы с болезнями сои включает метод молекулярного клонирования и конструирования транскрипционного фактора *PTMyb* и ключевых генов, участвующих в биосинтезе лигнина: *PAL*, *C4H / F5H*, *CAD*, *COMT* и т.д., с последующей идентификацией генов и их секвенированием в сотрудничестве с UIUC, USA; оптимизацию разработанной нами ранее технологии *germ-line* генетической трансформации; скрининг и молекулярную детекцию трансгенов с помощью ПЦР и RT-ПЦР, Саузерн и Нозерн блот-гибридизации; анализ физиологических и биохимических последствий интродукции этих ценных генов в сою; анализ параметров биосинтеза лигнина и метаболического профайлинга трансгенных растений на высокоточном жидкостном хроматографе Agilent 1100 LC, совмещенном с масс-спектрометром MSDT гар ХСТPlus (HPLC/MS); анализ устойчивости трансгенов к микропатогенам; методы характеристики фенологии, морфологии и продуктивности.

Полученные результаты: 1. Генные конструкции основных генов, участвующих в биосинтезе лигнина, подготовленные к интродукции в сою. 2. Оптимизированная *germ-line* технология генетической трансформации сои. 3. Молекулярно подтвержденные методами ПЦР, RT-ПЦР, Саузерн и Нозерн блот-гибридизации трансгены сои T<sub>1</sub> - T<sub>2</sub> поколения с генами лигнификации. Из 2000 проанализированных предположительно трансгенных растений доказана интродукция трансгенов лигнификации в геном 112 трансгенных линий сои первого поколения T<sub>1</sub> с эффективностью трансформации, в среднем, 5,6%. 4. Биохимическое подтверждение активизации биосинтеза лигнина и изменение состава его мономеров. 5. Метаболический профайлинг. Метаболический профайлинг трансгенных растений сои с генами лигнификации показал изменение состава метаболитов фенилпропаноидного цикла и увеличение содержания важнейших вторичных метаболитов: флавонолов, фенольных кислот, генистина и сапонинов. Показана дискриминация контрольных и трансгенных растений сои с интродуцированными генами лигнификации по семиполярным вторичным метаболитам - изофлавоноидам и сапонинам группы В, в результате исследования HPLC-MS метаболического профайлинга. У трансгенных растений сои с интродуцированными в геном генами *Cs/PtMYB4 sens.* и резвератрола - *Cs/PtAhRS3 sens.*, обычно отсутствующего в геноме сои, обнаружены дополнительные пики: *trans-Piceid*, *cis-Piceid*, *trans-Resveratrol* и *cis-Resveratrol*, доказывающие изменения метаболического профайлинга трансгенов сои. Определены ключевые метаболиты, коррелирующие с устойчивостью к биотическим стрессам в трансгенных растениях сои с генами лигнификации. Таким образом, осуществлен переход от Геномики к Метаболомике в пост - геномную эру.

**Establishment and evaluation of new gene editing and germ-line transformation agricultural technologies for creation of new elite disease resistant barley cultivars in the UK and Kazakhstan***Kershanskaya O., Stephens J.\**

Institute Plant Biology and Biotechnology, 45 Timiryazev str., Almaty, 050040, Kazakhstan

\*The James Hutton Institute, Dundee DD2 5DA, Scotland, UK

[gen\\_o.kersh@mail.ru](mailto:gen_o.kersh@mail.ru)

The technology, a genome-editing tool called CRISPR-Cas9, revolutionized the life sciences when it appeared on the market in 2012. CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) gene-editing is allowing rapid scientific advances in many fields, including human health and now it has been shown that crop research can also benefit from this latest exciting technology. New study of CRISPR-Cas9 technology shows potential to improve crop efficiency. It is now proving useful in the plant science community as a powerful tool for the improvement of agricultural crops. We have developed a genotype-independent germ-line transformation technique that requires no tissue culture steps in wheat and soybean. In this collaboration we are using this method to transform United Kingdom (UK) and Kazakhstan (KZ) barley cultivars with both conventional and new CRISPR/Cas9-based genome editing constructs to target genes that have been shown to confer resistance to a broad range of fungal or viral diseases in other species. It is estimated that up to 40% of harvest is lost worldwide to pests/diseases threatening our food supply. Barley is susceptible to many viral and fungal diseases that can result in drastically reduced yield and poor quality grain. Barley cultivars with improved resistance to fungal or viral pathogens will benefit farmers and the local economy by increasing harvest yields and grain quality. The development of a new genotype-independent, plant friendly transformation protocol in barley will be of interest to plant scientists enabling future experiments to be done in elite cultivars rather than the only transformable Golden Promise cultivar which is of little commercial importance. Higher yielding cultivars will benefit Government programs that have now promoted barley to a priority crop for use as feed. Objectives: To produce a genotype-independent transformation protocol for barley cultivars. Production of genome edited barley plants with resistance to viral diseases. Constructs creation for follow up experiments in reciprocal countries. Publications of fungal and viral resistance data from the new barley lines. Production of transgenic barley plants carrying fungal resistance. To generate 5 UK barley cultivars (Tipple, Bowman, Ovation, Origin and Optic) with resistance to multiple viruses. To generate 5 KZ barley cultivars (Asem, Inkar, Sari-Arua, Arna, Saule) with resistance to a broad range of fungal pathogens. Transfer of skills and technical knowledge (germ-line transformation and CRISPR/Cas9 genome editing technologies).

Results: The KZ has developed a method for rapid genotype-independent transformation using *Agrobacterium* pipetting, similar to a pollen-transfection method for other cereals and close to conventional cross-hybridization. At the start of the project the KZ visited the UK lab to transfer knowledge and skills of the transformation method. During this time the KZ lab learned to make genome editing (CRISPR/Cas9) constructs for gene knockout. Our experience of using CRISPR/Cas9 based genome editing technology (in the UK lab) has proved to be very efficient resulting in over 50% of lines showing knock out of target gene. To date we have produced knockouts in 20 different genes in collaboration with other research groups. Removal of undesirable plasmid DNA including the Cas9 and guide RNA achieved following segregation and screening of 'clean' plants in the next generation that carry only the edited event. The classification of genome edited plants is currently under review in European Scientific Community to decide whether new breeding technologies including CRISPR/Cas9 are exempt from GM classification. Target genes, constructs and transformation: 1. CRISPR construct to knock out the eukaryotic translation initiation factor (eIF4E) that is required by many viruses for multiplication. RNAi silencing of eIF4E has conferred resistance to multiple viruses in melon and broad spectrum resistance to potyviruses in tomato. More recently, *Arabidopsis* complete resistance to Turnip Mosaic Virus has been successfully engineered by editing eIF4E using the CRISPR/Cas9 tool. Once the gene edited events are established in barley, the transformation cassette including Cas9 and guide RNA was segregated away from the edited event to leave a 'clean' mutation. 2. The fungal cell wall is composed of chitin, glucans and other polymers. Homologs of both these genes have been overexpressed in a number of species and have shown various effects on fungal resistance. By targeting these main structural components we hoped to break down the fungal cell wall to prevent fungal attack. It has also been shown that enhancing glucanase activity in barley improves its quality as feed for livestock. Traditionally, barley-fed poultry have poor growth rates because they are deficient in glucanases and cannot fully break down endosperm cell walls. Feeding studies have shown that poultry fed genetically modified barley with heat stable glucanase outperformed poultry that were fed conventional barley. Introducing gene sequences using the CRISPR/Cas9-based technology is still inefficient so we used binary vectors containing a chitinase gene (*ac* from *Amaranthus caudatus*) and a heat stable glucanase gene for co-transformation experiments in barley. T1 seeds were germinated on antibiotic selection and confirmed as transgenic by PCR. Multiple seed from each independent line grown up as replicates and leaf tissue or whole plants used for assays with fungal spores (KZ) or virus isolates (UK) to determine resistance levels. Expected impacts: 1. Host resistance will be determined in our new cultivars to inform breeders for future use in breeding programs. 2. Higher yielding cultivars will reduce the land and labour costs. 3. The genome edited plants with virus resistance will be segregated to produce 'clean' plants free of vector sequence which may be classified as GMO-free and suitable for future planting. 4. These new technologies will provide the means to target other quality traits (including agronomic and malting) for improved barley cultivars in the future.

## **The influence of ambiol on the increase of sustainability of potato plants to drought**

*Kirillova I.G.*

Orel State University named of I.S. Turgenev, Komsomol'skaya, 95, Oryol, 302015, Russia  
[kaf\\_botany@univ-orel.ru](mailto:kaf_botany@univ-orel.ru)

The influence of growth regulator-antioxidant ambiol on the drought-resistant of potato plants in the field experiment was studied. The treatment of ambiol was carried out by means of loading of tubers in to solutions of concentrations -20 mg/l, 30 mg/l. The influence of ambiol on the water-holding capacity, photosynthetic proofs, tempo of growth and productivity of potato plants in conditions of drought was investigated. It was found, that the treatment of ambiol decreased the water loss from the leaf. The greater effect was revealed by treatment of ambiol - 30 mg/l. On the average, on this variant the loss of water during the hour putted 17% opposite 26 % on the control variant. It was shown, that the ambiol (30 mg/l) increased the photosynthetic intensity and photochemical activity of chloroplasts (in flowering phase), tempo of growth and productivity of potato. The mass of tubers on the one plant increased on 33% as compared with control because of their quality. Such thus, it was found, that the ambiol in concentration – 30 mg/l promotes to rise of the drought-resistant of potato plants.

## Изменение активности $H^+$ -АТФазы плазмалеммы в ходе роста растяжением при недостатке ауксин связывающего белка 1

Кирпичникова А.А., Чэнь Т., Теплякова С.Б., Шишова М.Ф.

ФГБОУ ВО "Санкт-Петербургский государственный университет", СПбГУ 199034 Санкт-Петербург,  
Университетская наб. 7/9  
[mshishova@mail.ru](mailto:mshishova@mail.ru)

$H^+$ -АТФ-аза плазмалеммы (ПМ) играет ключевую роль в обеспечении роста растяжением за счет изменения рН клеточной стенки с последующим изменением ее пластичности. Разрыхление клеточной стенки лежит в основе физиологической возможности роста растительной клетки. Регуляция работы протонной помпы ПМ осуществляется на различных уровнях: транскрипционном и пост-трансляционном. Одним из факторов, инициирующих рост растяжением, является фитогормон ауксин. В настоящее время расшифрован сигнальный каскад, реализующийся с участием рецептора TIR1. Однако накоплен ряд данных о том, что действие ауксина на плазмалемму и гормон-зависимая активация работы  $H^+$ -АТФазы плазмалеммы может модулироваться ауксин связывающим белком 1 (ABP1). Роль этого белка дискутируется уже с 80-х годов и ему присваивается как функции внеклеточного домена плазмалеммного рецептора ауксина, так и полное отсутствие физиологической значимости этого белка в реализации ауксинового ответа.

Цель данного исследования состояла в выявлении роли ABP1 в регуляции роста растяжением и модуляции работы  $H^+$ -АТФазы. Работа проведена с использованием уникальной суспензионной культуры табака Ву-2 (*Nicotiana tabacum* L. cv. Bright Yellow) дикого типа, сохраняющей в своем цикле развития этап роста растяжением и трансгенной линии NAS, представляющей собой результат антисенс-трансформации по гену, кодирующему ABP1, характеризующейся пониженным содержанием ауксин связывающего белка 1.

Показано, что линия NAS имеет замедленное развитие и резко сниженную амплитуду растяжения по сравнению с клетками дикого типа. Для работы были использованы клетки в возрасте 7, 14 и 18 суток. Данные временные интервалы соответствовали началу роста, его максимальной активности и завершению. Фракция плазмалеммы была получена при помощи дифференциального центрифугирования с последующей очисткой в водной двухфазной системе ПЭГ/Декстран. Гидролитическую активность  $H^+$ -АТФазы фракции ПМ оценивали по накоплению неорганического фосфата спектрофотометрическим методом. Определение содержания белка в мембранной фракции проводили микрометодом М. Бредфорд. Представленность  $H^+$ -АТФаз в составе плазмалеммы определяли методом Вестерн-блот анализа.

В результате проведенного исследования было выявлено, что рост клеток табака дикого типа имеет нелинейный характер и достигает максимума на 14 день развития культуры. Анализ гидролитической активности  $H^+$ -АТФазы плазмалеммы выявил сходный нелинейный характер работы фермента. Активность фермента соответствовала увеличению количества  $H^+$ -АТФаз в составе везикулярной фракции. Аналогичное исследование с использованием трансгенной линии NAS показало резкое снижение интенсивности роста, коррелирующее со снижением представленности протонной помпы в составе плазмалеммы. Установлено, что при этом в значительной степени снижалась гидролитическая активность фермента, однако оптимум рН работы фермента как у дикого типа, так и линии NAS приходился на 6.0-6.5.

Таким образом, снижение содержания белка ABP1 приводило к нарушению процесса роста растяжением. Полученные данные свидетельствуют о том, что происходило уменьшение интенсивности работы  $H^+$ -АТФазы плазмалеммы за счет снижения содержания фермента в составе мембраны, а не за счет изменения его свойств.

Работа частично поддержана грантом РФФИ № 16-04-00743.



## **Адаптационные механизмы устойчивости иммунных и не иммунных к парше сортов яблони к высокотемпературному стрессу**

*Киселева Г.К., Ненько Н.И., Шестакова В.В., Ульяновская Е.В., Караваева А.В.*

Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства. ул. им. 40-летия Победы, 39, Краснодар, Россия  
[galina-kiseleva-1960@mail.ru](mailto:galina-kiseleva-1960@mail.ru)

Вопросы устойчивости растений яблони к высокотемпературному стрессу приобретают особую значимость для Северо-Кавказского региона России, где температуры летнего вегетационного периода достигают экстремальных величин. В то же время участившиеся эпифитотии заболевания паршой повышают востребованность возделывания иммунных к парше сортов яблони для снижения потерь и увеличения урожайности плодов. Выявление механизмов биохимической адаптации иммунных и не иммунных к парше сортов яблони будет способствовать повышению их устойчивости к лимитирующим факторам среды (высокой температуре, патогену парши).

Цель – изучить адаптационные механизмы устойчивости иммунных и не иммунных к парше сортов яблони к высокотемпературному стрессу в условиях летнего вегетационного периода 2016 г.

Объектами исследования служили сорта яблони с различной устойчивостью к парше: иммунные - Рассвет, Фортуна, Союз, Дейтон и не иммунные - Родничок, Эрли Мак, Пирос, Золотое летнее, Алые паруса. Физиолого-биохимические параметры (содержание суммы хлорофиллов, каротиноидов, хлорогеновой кислоты, лигнина) определяли с использованием высокоэффективного аналитического оборудования ЦКП «Приборно - аналитический» по соответствующим методикам.

Экстремально высокие температуры летнего периода и сопровождающая их засуха ингибируют фотосинтез и рост растений, следствием чего являются многочисленные метаболические нарушения, проявляющиеся постепенно на последующих этапах развития растений. Суммируясь, они влияют на функциональную активность листового аппарата яблони, формирование и величину урожая растений яблони.

Выявлена различная реакция пигментного комплекса на высокотемпературный стресс у иммунных и не иммунных к парше сортов яблони. Адаптация пигментного комплекса к повышенным температурам заключается в общем повышении у устойчивых сортов содержания хлорофиллов и каротиноидов на единицу массы листовой пластинки. Содержание суммы хлорофиллов а+в у иммунных к парше сортов яблони составляло 3,45-6,65 мг/г сухого вещества; у не иммунных 2,30-6,05 мг/г сухого вещества. Содержание каротиноидов, выполняющих стресспротекторную функцию хлорофилла от окисления молекулярным кислородом, у иммунных к парше сортов яблони составляло 2,08-3,74 мг/г сухого вещества; у не иммунных к парше сортов яблони 1,07-3,02 мг/г сухого вещества. Повышенное накопление каротиноидов в неблагоприятных условиях летнего периода необходимо для стимулирования адаптивных реакций и снижения общего стресса.

Высокотемпературный стресс вызывает адаптивные изменения гормональной системы регуляции растений, происходит накопление ингибиторов роста фенольной природы, в частности хлорогеновой кислоты. Также ей отводится большая роль в устойчивости растений против патогенов, поскольку хлорогеновая кислота участвует в окислительном метаболизме, являясь предшественником лигнина. Содержание хлорогеновой кислоты у иммунных к парше сортов яблони составляло 2600,4-6236,1 мг/кг сухого вещества; у не иммунных к парше 1173,8-2453,8 мг/кг сухого вещества. Следовательно, содержание хлорогеновой кислоты в листовом аппарате иммунных сортов яблони повышает их устойчивость к поражению паршой. Лигнификация растительных тканей, как известно, является ответной реакцией на внедрение патогенов. Содержание лигнина у иммунных к парше сортов яблони составляло 35-81 % от массы сырого вещества; у не иммунных к парше 19-33 % от массы сырого вещества.

Выявлено, что с повышением устойчивости сорта яблони к парше у него появляется тенденция к повышению устойчивости к высокотемпературному стрессу. Исключение составляет не иммунный к парше сорт яблони Родничок, физиолого-биохимические параметры которого приближаются к параметрам иммунных сортов поскольку он является триплоидным по происхождению, что делает его более адаптивным к высоко температурному стрессу. В условиях летнего вегетационного периода 2016 г. выявлены адаптационные механизмы устойчивости иммунных и не иммунных к парше сортов яблони к высокотемпературному стрессу. Установлено, что биохимическая адаптация иммунных к парше сортов яблони к засухе обусловлена повышенным содержанием суммы хлорофиллов а+в, каротиноидов, хлорогеновой кислоты, лигнина.

Таким образом, повышение иммунности сорта, создание иммунных положительно влияет на его устойчивость к высоким температурам (сопряженная устойчивость) повышая его экологическую пластичность.

Поддержано грантом №16-44-230077 р\_а Российского фонда фундаментальных исследований и администрации Краснодарского края

## Организация актинового цитоскелета в клетках клубеньков гороха (*Pisum sativum* L.) и люцерны (*Medicago truncatula* Gaerth.)

Китаева А.Б. \*, Кусакин П.Г. \*, Демченко К.Н. \*\*\*, Цыганов В.Е. \*

\* ФГБУН «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», 196608, ш. Подбельского, 3, г. Пушкин 8, г. Санкт-Петербург, Россия

\*\* ФГБУН Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН, 197376, ул. проф. Попова, 2, г. Санкт-Петербург, Россия  
[anyakitaeva@gmail.ru](mailto:anyakitaeva@gmail.ru)

Цитоскелет играет важную роль в функционировании клетки. Тем не менее, существует ограниченное количество данных об изменениях в организации актинового и тубулинового цитоскелета в процессе дифференцировки клеток симбиотического клубенька. Так, ранее нами было показано, что тубулиновый цитоскелет участвует в росте инфекционной нити, формировании инфекционной капли, выходе бактерий в цитоплазму растительной клетки, а также ориентации бактериоидов при развитии клубеньков двух бобовых растений: важной сельскохозяйственной культуры – гороха посевного (*Pisum sativum* L.) и модельного растения – люцерны слабоусеченной (*Medicago truncatula* Gaertn.).

В данном исследовании с использованием методов иммунолокализации и конфокальной лазерной сканирующей микроскопии нами была изучена организация актинового цитоскелета в симбиотических клубеньках дикого типа и мутантов, формирующих неэффективные клубеньки, у гороха и люцерны слабоусеченной. Были использованы линии дикого типа люцерны A17 и гороха SGE и полученные на их основе линии с мутациями в ортологичных генах: TR3 (*ipd3*) и SGEFix<sup>-2</sup> (*sym33*), характеризующиеся отсутствием выхода бактерий в цитоплазму растительной клетки, *efd-1* и SGEFix<sup>-1</sup> (*sym40*), формирующие гипертрофированные инфекционные капли.

В ходе проведенного анализа не было выявлено различий в организации актинового цитоскелета у изученных видов бобовых растений. Также было показано, что проанализированные мутации не влияли на организацию актинового цитоскелета. Тем не менее, их использование позволило изучить взаимное расположение актиновых микрофиламентов и симбиотических структур более детально, поскольку данные мутанты характеризуются гипертрофированным развитием инфекционных нитей и капель. Показано, что плотная сеть утолщенных актиновых микрофиламентов окружает ядро во всех типах клеток клубеньков гороха и люцерны, при этом она соединяет ядро с периферией клетки. Сходной сетью микрофиламентов окружена вакуоль. Утолщенные кортикальные актиновые микрофиламенты формируют густую сеть в неинфицированных и колонизированных (содержащих инфекционные структуры – инфекционные нити и капли) клетках клубенька. Утолщенные эндоплазматические филаменты проходят вдоль инфекционных нитей и окружают инфекционные капли. В инфицированных клетках после выхода бактерий в цитоплазму происходит реорганизация актинового цитоскелета. Развивается сеть тонких и коротких эндоплазматических микрофиламентов между бактериоидами. Утолщенные кортикальные микрофиламенты заменяются на тонкие. Таким образом, показано, что дифференцировка клеток симбиотического клубенька сопровождается реорганизацией актинового цитоскелета.

Работа поддержана РФФ 16-16-10035

## Накопление и распределение цинка по тканям растений *Noccaea caerulea* (экотип St Laurent le Minier) в природной популяции и в условиях гидропоники: сравнительный анализ

Кожевникова А.Д., Серегин И.В.

ФГБУН Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева РАН, 127276, ул. Ботаническая, 35, Москва, Россия,  
тел.: (499)231-83-24, факс: +7(499) 977-80-18  
[urtica8127@yandex.ru](mailto:urtica8127@yandex.ru)

Несмотря на интенсивное исследование феномена гипераккумуляции, распределение металлов на тканевом уровне изучено недостаточно. Распределение цинка ранее изучалось в основном на растениях, выращенных на гидропонике. Поэтому было принципиально важно провести сравнительный анализ распределения металлов на тканевом уровне у растений, взятых из природной популяции и выращенных в лабораторных условиях. Такие сравнительные исследования ранее не проводились и были необходимы не только для апробации гистохимических методов, но и для решения вопроса о возможности экстраполяции полученных в лабораторных условиях результатов на реальные природные популяции.

В работе проведен сравнительный анализ распределения цинка (Zn) по тканям побега гипераккумулятора *Noccaea caerulea* F.K. Mey экотипа St Laurent le Minier (SLM). Растения собирали на металлоносных почвах заброшенного рудника в окрестностях города Сен-Лоран-ле-Минье (Южная Франция), а также выращивали на растворе Хогланда в течение 8 недель в присутствии 2, 200, 400, 800, 1000 и 1600 мкМ Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. Семена, из которых были выращены растения для лабораторных экспериментов, были собраны с растений той же природной популяции. Токсическое действие Zn в лабораторных условиях оценивали по изменению сухой массы корней и побегов. Содержание Zn в корнях и побегах определяли методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии, а распределение металла по тканям – гистохимическим методом с использованием высокочувствительного флуоресцентного индикатора Zinrug-1 и металлохромного индикатора цинкон.

Содержание Zn в почве составляло в среднем 50 г/кг сухой массы, тогда как в листьях *N. caerulea* из природной популяции среднее содержание Zn составляло около 15 г/кг сухой массы без проявления существенных симптомов токсичности. Цинк при всех изученных концентрациях не оказывал заметного токсического действия на рост корня и побега растений на гидропонике. Содержание Zn в побегах растений, выращенных на гидропонике, увеличивалось при увеличении концентрации Zn в растворе до 200 мкМ и затем существенно не менялась вплоть до самой высокой из использованных концентраций Zn 1600 мкМ, в то время как содержание Zn в корнях постепенно увеличивалось с увеличением концентрации металла в растворе. При концентрации Zn в растворе от 2 до 200 мкМ, содержание Zn в побегах было выше, чем в корнях, при концентрации Zn от 400 до 800 мкМ, содержание металла в побегах и корнях существенно не отличалось, а при концентрациях 1000 и 1600 мкМ содержание Zn в корнях превышало его содержание в побегах. Полученные данные показывают, что в процессе загрузки ксилемы происходит насыщение при 200 мкМ Zn в питательном растворе и дальнейшее увеличение концентрации металла в среде не приводит к существенному увеличению его содержания в побегах. Наибольшее содержание Zn в листьях растений, выращенных на гидропонике, наблюдалось при концентрации 1600 мкМ Zn в среде и составляло около 15 г/кг сухой массы, что соответствовало среднему содержанию металла в побегах растений из природной популяции.

Гистохимический анализ распределения Zn по тканям побега выявил сходные закономерности у растений, собранных в природной популяции, и растений, выращенных на гидропонике, что свидетельствует как о применимости флуоресцентного индикатора Zinrug-1 и металлохромного индикатора цинкон для оценки распределения Zn в растениях из природных популяций, так и о возможности экстраполяции полученных в лабораторных исследованиях данных о закономерностях распределения Zn по тканям на растения из природных популяций. Содержание Zn, оцененное по интенсивности флуоресценции или окрашивания на единицу площади среза листовой пластинки, в клетках эпидермы и проводящих тканях было существенно выше, чем в клетках мезофилла. Даже при очень высоком содержании Zn в эпидермальных клетках, его содержание в мезофилле было существенно ниже и признаков хлороза не наблюдалось, что позволяет рассматривать накопление Zn в эпидерме как эффективный механизм его детоксикации. Содержание Zn в замыкающих и основных клетках эпидермы было значительно выше, чем в побочных клетках устьичного комплекса, что, вероятно, может быть связано с гетерогенностью локализации соответствующих транспортеров. В верхней эпидерме указанные различия были выражены в меньшей степени, чем в нижней эпидерме, что отчасти может быть связано с разной интенсивностью транспирации. Цинк выявлялся как в клеточных оболочках, так и в протопластах клеток эпидермы. Можно полагать, что значительная часть поступившего в клетку Zn накапливается в вакуоли. Экотип SLM гипераккумулятора *N. caerulea* обладает более высокой устойчивостью и способностью к накоплению Zn по сравнению с экотипами La Calamine, Saint Félix de Paillières и Lellingen. Причиной высокой конститутивной устойчивости гипераккумулятора *N. caerulea* к Zn является высокая эффективность механизмов детоксикации металлов, одним из которых является накопление Zn в водозапасающих клетках эпидермы листа и ограниченное поступление в мезофилл.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Гранта РФФИ № 15-04-02236, а также Международной научной программы LOCOMET.

**Роль гистидина в транспорте и аккумуляции металлов у растений семейства Brassicaceae****Кожевникова А.Д., Серегин И.В., Жуковская Н.В., Схат Х.\***ФГБУН Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева РАН, 127276, ул. Ботаническая, 35, Москва, Россия, тел.: (499) 678-53-24, факс: +7(499) 678-54-20 [urtica8127@yandex.ru](mailto:urtica8127@yandex.ru)\*Свободный Университет, Де Булелаан 1085, 1081, Амстердам, Нидерланды, тел.: (3120) 598-27-37 [h.schat@vu.nl](mailto:h.schat@vu.nl)

Способность к накоплению металлов и устойчивость к их избытку может существенно различаться у разных видов растений, среди которых выделяют две контрастные группы: исключатели, накапливающие металлы преимущественно в корнях и аккумуляторы, накапливающие металлы главным образом в побегах. Физиологические механизмы, определяющие способность растений избирательно накапливать металлы в корнях или побегах, до сих пор плохо изучены. Органические хелаторы, в частности гистидин, играют важную роль в передвижении и накоплении некоторых металлов.

Для анализа участия гистидина в транспорте никеля (Ni), цинка (Zn) и кадмия (Cd) растения исключателя *Thlaspi arvense* L. и нескольких экотипов гипераккумулятора *Noccaea caerulescens* F.K. Mey (ранее *Thlaspi caerulescens* J. & C. Presl) выращивали на ½ среды Хогланда в течение 8 недель в присутствии 2 мкМ Zn и в отсутствие Ni и Cd. Перед сбором пасоки 8-недельные растения инкубировали в течение 4 ч на растворах 1 мМ L-гистидина или L-аланина. В качестве контроля служили также неподготовленные растения. После предобработки корни отмывали, а побеги отрезали. Пасоку собирали в течение ночи, инкубируя корневые системы на ½ среды Хогланда в присутствии 5, 50 или 500 (только для *N. caerulescens*) мкМ Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>; 25 или 250 (только для *N. caerulescens*) мкМ NiSO<sub>4</sub>, а также 1 мкМ Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (только для *N. caerulescens*). С целью сравнения роли гистидина в транспорте металлов у разных представителей Brassicaceae было также проанализировано влияние предобработки гистидином на загрузку Ni и Zn в ксилему после инкубации корневых систем гипераккумуляторов *Arabidopsis halleri*, *N. praecox*, *N. goesingense* и исключателей *A. lyrata*, *Microthlaspi perfoliatum*, а также *Capsella bursa-pastoris* в присутствии 25 мкМ NiSO<sub>4</sub> или Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. Содержание Ni, Zn и Cd определяли методом пламенной и графитной атомно-абсорбционной спектроскопии, а гистидина – с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии.

В корнях гипераккумулятора *N. caerulescens* содержание свободного гистидина было в 10 раз выше по сравнению с исключателем *T. arvense*, в то время как в побегах уровень гистидина у гипераккумулятора лишь незначительно превышал его содержание у исключателя. Содержание гистидина в пасоке увеличивалось после предобработки гистидином как у исключателя, так и у гипераккумулятора, что свидетельствует о поглощении гистидина корнями растений обеих групп. Предобработка гистидином стимулировала загрузку Ni и Zn в ксилему у гипераккумулятора *N. caerulescens*, но не у исключателя *T. arvense*. В наибольшей степени загрузка Ni в сосуды ксилемы возрастала после предобработки гистидином растений экотипа Monte Prinzer с серпентиновых почв, богатых Ni, а Zn – у экотипов La Calamine и Saint Félix de Pallières с каламиновых почв, богатых Zn, Cd, Pb. Аланин не влиял на загрузку Ni и Zn в проводящие ткани, что свидетельствует о том, что стимуляция гистидином загрузки этих металлов в ксилему не является общим свойством аминокислот. Предобработка гистидином не оказывала влияния на загрузку Cd в ксилему, возможно, из-за относительно низкого сродства этого металла к N-содержащим лигандам.

У всех изученных видов растений после предобработки гистидином не наблюдалось уменьшения объема ксилемного сока. Загрузка металлов в ксилему у неподготовленных растений гипераккумуляторов была выше, чем у исключателей. Интенсивность загрузки Ni и Zn у разных видов гипераккумуляторов различалась незначительно. Аналогичные закономерности выявлялись и у исключателей. Наиболее интенсивная загрузка Ni наблюдалась у *A. halleri*. Предобработка гистидином приводила к существенному увеличению загрузки Ni как у гипераккумуляторов, так и у исключателей из семейства Brassicaceae, тогда как загрузка Zn увеличивалась только у гипераккумуляторов, за исключением *N. goesingense*, что свидетельствует о различной способности разных видов транспортировать комплексы Ni или Zn с гистидином через тонопласт или в сосуды ксилемы. Учитывая достоверное увеличение объема пасоки после предобработки гистидином у *A. halleri* и *N. praecox*, у этих видов наблюдалась наибольшая стимуляция загрузки Zn в сосуды ксилемы.

Таким образом, физиологические механизмы, определяющие избирательное накопление тяжелых металлов в надземных органах гипераккумуляторов и подземных органах исключателей, не одинаковы для разных металлов: гистидин принимает участие в транспорте Ni и Zn, но не Cd. Образование комплекса Ni и Zn с гистидином предотвращает их поступление в вакуоли клеток корня *N. caerulescens*, а следовательно, определяет более эффективное, по сравнению с исключателем, поступление металлов в проводящие ткани и в надземные органы *N. caerulescens*, что подтверждается данными гистохимического анализа распределения Ni и Zn на тканевом и клеточном уровнях.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Гранта РФФИ № 15-04-02236, а также Международной научной программы LOCOMET.

**Ксиланы растительных клеточных стенок: структура и функции отдельных популяций молекул**

*Козлова Л.В.\*\*\*, Назипова А.Р.\*, Агеева М.В.\*, Горшкова Т.А.\**

\*Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН, Лобачевского, 2/31, Казань, Россия.

\*\*ФГБОУ ВО Казанский национальный исследовательский технологический университет, К. Маркса, 68, Казань, Россия

[liudmilakibbksc@gmail.com](mailto:liudmilakibbksc@gmail.com)

Следующими после целлюлозы и лигнинов по своей распространенности на Земле природными полимерами являются ксиланы – полисахариды на основе остова из остатков  $\beta$ -D-ксилозы. При этом структурное разнообразие ксиланов, обеспечиваемое различными типами заместителей остова и их распределением по длине молекулы, огромно, однако, значение этого полиморфизма не установлено. В первичных и вторичных клеточных стенках злаков глюкуроноарабиноксиланы (то есть ксиланы, остов которых замещен арабинозой и в меньшей степени - остатками глюкуроновой кислоты) составляют основу фракции гемицеллюлоз. В растительных клеточных стенках ксиланам, как правило, приписывается структурная функция в качестве связующих гликанов, то есть полисахаридов, объединяющих целлюлозные микрофибриллы в целостное надмолекулярное образование.

При этом существуют совокупности молекул глюкуроноарабиноксиланов, отличающихся по своей экстрагируемости из клеточных стенок. То есть, такие группы молекул, которые при относительном постоянстве своего состава и молекулярно-массового распределения могут быть получены из растительного материала только в результате строго определенных обработок специфичными дезинтегрирующими агентами. Принимая во внимание характер воздействий, которые может оказывать на клеточные стенки тот или иной реагент, можно судить об особенностях участия каждой из этих групп глюкуроноарабиноксиланов в формировании надмолекулярной структуры клеточной стенки. Такие совокупности молекул в контексте заявленной темы будут обозначаться как популяции.

Различные популяции глюкуроноарабиноксиланов были выделены из растягивающихся и закончивших растяжение отрезков мезокотилей четырехдневных проростков кукурузы. Клетки мезокотилей кукурузы за редким исключением (элементы проводящей системы) имеют первичную клеточную стенку. В ходе роста растяжением однодольных растений структура глюкуроноарабиноксиланов претерпевает ряд изменений, ключевым из которых считается снижение степени их замещения. За счет уменьшения разветвленности предположительно возрастает степень вовлеченности глюкуроноарабиноксиланов во взаимодействие с микрофибриллами целлюлозы и, как следствие, происходит упрочнение клеточной стенки. Однако особенности распределения различных популяций глюкуроноарабиноксиланов в первичных клеточных стенках однодольных и их переходы к более или менее тесному взаимодействию с микрофибриллами целлюлозы и другими компонентами клеточных стенок, насколько нам известно, еще не были документированы.

Для последовательной дезинтеграции клеточных стенок растягивающихся и не растягивающихся участков мезокотилей применяли специфические гликан-гидролазы (предположительно способные экстрагировать только «свободные» от взаимодействия с целлюлозой участки гемицеллюлозных молекул), гидроксид калия (разрушающий взаимодействие между целлюлозой и гемицеллюлозами) и трифторуксусную кислоту (гидролизующую в том числе и целлюлозу и высвобождающую прочно связанные с ней полисахариды) в различных сочетаниях.

Для полученных популяций глюкуроноарабиноксиланов были проведены исследования молекулярно-массового распределения с помощью гель-проникающей хроматографии, анализ моносахаридного состава, посредством высокоэффективной анионообменной хроматографии, и характеристика особенностей химического строения с использованием ЯМР-спектроскопии. Кроме того, была проведена иммуногистохимическая визуализация глюкуроноарабиноксиланов различного строения на срезах мезокотилей, до и после обработок теми же дезинтегрирующими агентами, которые использовались для экстракции различных популяций молекул.

В докладе будут представлены данные по структурным особенностям популяций молекул глюкуроноарабиноксиланов, вовлеченных в те или иные взаимодействия в первичных клеточных стенках кукурузы, а также по динамике перехода глюкуроноарабиноксиланов от одних видов взаимодействия к другим в ходе роста клеток растяжением.

Исследования проведены при частичной финансовой поддержке гранта президента Российской Федерации МК-2584.2017.4.

**Активация L-лактат:цитохром с-оксидоредуктазы и лактатдегидрогеназы в растениях гороха *Pisum sativum*, помещенных в условия гипоксии путем затопления****Комарова Н.Р., Ларченков В.М., Сорокина Т.В.**ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет  
[nad1989@mail.ru](mailto:nad1989@mail.ru)

В условиях гипоксии у растений, когда электрон-транспортная цепь митохондрий не функционирует, а образующийся в ходе гликолиза NADH может окисляться в реакциях молочнокислого и спиртового брожения. Однако при этом могут накапливаться токсичные продукты данных реакций, одним из которых является лактат. Возникло предположение о существовании у растений специальных ферментов, ответственных за быстрое удаление лактата из внутренней среды клеток.

В результате предыдущей работы было выявлено существование L-лактат: цитохром с-оксидоредуктазы (ЛЦО) в проростках семян гороха посевного. Целью данной работы явилось выявление ферментов ЛЦО и ЛДГ в зеленых частях и корнях взрослых растений гороха посевного, культивированных в разных условиях.

Объектом исследований явились 16-дневные растения гороха посевного *Pisum sativum*, которые были разделены на четыре группы: первая часть растений – на протяжении 24 часов содержалась в темноте при полном погружении корней в воду; следующая группа растений содержалась в темноте, но при обычном водном режиме проращивания; третья – в привычных для растений условиях освещения и с полным затоплением корневой системы; и четвертая группа – в обычных по свету и водному режиму условиях культивирования. Активность фермента ЛЦО определялась спектрофотометрическим методом при длине волны 420 нм по уменьшению концентрации гексацианоферрата калия (III) в реакционной смеси. Активность фермента ЛДГ определялась спектрофотометрически при длине волны 340 нм в среде следующего состава: пируват — 1 мМ, NADH – 50 мМ на спектрофотометре СФ-56. Измерению подлежали как наземные части растения так и корневая система.

При исследовании активности ЛЦО и ЛДГ у шестнадцатидневных растений гороха посевного выявлено значительное повышение активности данных ферментов после инкубации корней в течение 24 часов под водой и в темноте; и чуть менее резкое повышение у группы растений, помещенных в условия гипоксии, но содержащихся на свету по сравнению с группами растений, находившимися в условиях обычного увлажнения, что указывает на активацию ЛЦО и ЛДГ в условиях гипоксии. Также была изучена активность ферментов в корнях растений. Показатели удельной и общей активности ЛЦО и ЛДГ в корневой системе практически не меняются в зависимости от условий культивирования на протяжении 24 часов и имеют значение в 17 раз ниже по сравнению с группой растений помещенных в темноту и под воду для ЛЦО, и в 7 раз ниже для ЛДГ.

Согласно опубликованным ранее литературным данным, молочная кислота может быть доминирующим продуктом анаэробного обмена, в том случае если возможен путь выведения ее из клетки, что снижает риск закисления цитоплазмы. На основании полученных нами результатов можно предположить, вероятный путь адаптации к недостатку кислорода растений гороха, заключающийся в функционировании сопряженной системы ЛДГ-ЛЦО, предотвращающей закисление цитоплазмы клетки и обуславливающей выживание растений в стрессовых условиях.

## Аллелохимикалии растений против насекомых

*Кондратьев М.Н., Ларикова Ю.С.*

Российский государственный аграрный университет – Московская сельскохозяйственная академия имени  
К.А.Тимирязева. Тимирязевская ул., 49, Москва, Россия.  
[minikondr39@mail.ru](mailto:minikondr39@mail.ru)

Экологические отношения между растениями и насекомыми, являются сложными с точки зрения, как физиологических, так и химических взаимодействий. Эта взаимосвязь также зависит от биологии растений, насекомых, характера взаимодействий между растениями и насекомыми, включая гиперчувствительность реакции и устойчивость растений к переносимым насекомыми болезням. Механизмы защиты у растений, или нападения у насекомых находятся под генетическим контролем. В этой связи вызывает интерес вопрос, как насекомые выбирают растения для поедания и в качестве объектов для откладывания яиц. Насекомые имеют ряд хеморецепторов (вкусовые и обонятельные хеморецепторные системы), в основном на их антеннах и ротовой полости, которые позволяют им различать разнообразные химические соединения, часто в очень низких концентрациях. Полученная насекомыми информация кодируется. Её последующее декодирование осуществляется командными центрами, локализованными в центральной нервной системе. Системная оценка видов растений, которыми питались личинки бабочек, привела к выводу, что вторичные метаболиты растений играют ведущую роль в определении моделей использования ими растительной пищи. Так, в ответ на атаку личинок бабочек растения выделяют летучие аллелохимикалии, которые привлекают насекомых-паразитоидов, при этом они заражают гусениц (у насекомых с полным превращением) своими личинками. Паразитоидами чаще всего являются осы-наездники (*parasitic wasp*). С помощью яйцеклада наездники откладывают яйца в тело личинок (гусениц) или в яйца своих жертв, тем самым, избавляя растение от хищника. С помощью химического сигнала растения как бы помогают насекомому-паразитоиду найти свою добычу. Биосинтез в тканях растений химических соединений, непосредственно не связанных с их основными метаболическими путями, но не вредных для нормального роста и развития, служит для уменьшения или ликвидации вкусовых качеств растений, в которых они синтезируются. Вторичные метаболиты, которые делают растение неприятным в качестве пищевого объекта, присутствуют в нём в концентрации достаточной, чтобы оказывать нежелательное физиологическое действие на насекомое. Следует подчеркнуть, что насекомые могут использовать вторичные метаболиты, чтобы увеличить свою приспособляемость. Хорошо известна способность некоторых насекомых в личиночной стадии к усвоению растительных токсинов для пищевых целей. Они затем транслоцируют эти токсины во взрослое имаго, личинки и сформировавшееся насекомое, чтобы получить защиту от поедания птицами. В исследованиях на личинках бабочки *Polyommatus icarus* были установлены важные особенности поглощения и секвестрирования (разложения) вторичных метаболитов насекомыми: 1) личинки используют только часть флавоноидов растения-хозяина (в основном кверцетин и кемпферол, в то время как другие флавоноиды выводятся из организма); 2) количество потреблённых флавоноидов коррелирует с массой личинок; 3) флавоноиды метаболизируются, а их конъюгированные формы запасаются. Эти данные также показывают, что женские особи лучше приспособлены к усвоению вторичных соединений, чем мужские, при этом накопленные флавоноиды уменьшают размер крыльев женских особей и их привлекательность. У мужских особей, накапливающих флавоноиды, окраска крыльев более яркая по сравнению с экземплярами, не содержащими флавоноиды. Кроме того, химические ингибиторы играют важную роль в ограничении возможности откладки яиц на растении-хозяине, что, в свою очередь, отражается на росте личинок и выживании потомства.

**Влияние узкоспектрального света на уровень салициловой и абсцизовой кислоты в тканях почки возобновления луковиц тюльпанов**

*Кондратьева В.В., Семенова М.В., Олехнович Л.С., Данилина Н.Н., Воронкова Т.В.*

ФГБУН Главный Ботанический сад им. Н.В.Цицина РАН, Ботаническая ул. 4, Москва, Россия  
[lab-physiol@mail.ru](mailto:lab-physiol@mail.ru)

Изучали влияние красного света (660 нм) от светодиодных панелей на изменение содержания элиситоров протекторных механизмов - салициловой (СК) и абсцизовой (АБК) кислот в тканях почки возобновления тюльпанов из группы Дарвиновы гибриды, различных по устойчивости к биогенным стрессам (грибной инфекции). Работа выполнена на двух сортах: относительно устойчивом Beauty of Oxford и поражаемом Yellow Dover. Перед посадкой луковицы второго разбора в течение пяти суток облучали красным светом (660 нм) от светодиодных ламп модели ПС – 2 (УСС-12) без доступа дневного света при температуре 13°C. Контрольный вариант – луковицы, хранившиеся в темноте при той же температуре. Пробы для анализа брали перед облучением, затем после пяти дней облучения (перед посадкой), после укоренения луковиц и весной при появлении листьев над поверхностью почвы. Анализ СК и АБК проводили из одной навески с использованием на заключительном этапе идентификации и количественного определения методом ВЭЖХ. В результате эксперимента установлены существенные различия в уровне и динамике СК и АБК в тканях почки возобновления по сортам и вариантам опыта. Так, у относительно устойчивого сорта исходное содержание СК в два раза превосходило этот показатель у поражаемого сорта. После пяти дней воздействия красного света уровень СК у сорта Beauty of Oxford почти не изменился (в контроле увеличился), а у поражаемого сорта Yellow Dove возрос в четыре раза (в контроле в шесть раз). После укоренения луковиц содержание СК в тканях почки устойчивого сорта Beauty of Oxford в контроле возросло в два раза по сравнению с исходным, а в опыте осталось без изменений. У поражаемого сорта существенных различий в содержании СК в этот срок не отмечено. Весной, после появления листьев над поверхностью почвы в тканях отрастающих побегов уровень СК был выше в контроле. У сорта Beauty of Oxford превышение было незначительно, а у поражаемого сорта Yellow Dover уровень СК в тканях контрольных растений в два раза превышал таковой у опытных. Исходное содержание АБК в тканях почек возобновления обоих сортов было почти одинаковым. После воздействия узкоспектрального света у поражаемого сорта оно почти не изменилось (в контроле возросло в два раза). После укоренения луковиц существенного различия в уровне АБК в тканях контрольных и опытных растений не было у обоих сортов. Весной в тканях прорастающих побегов устойчивого сорта различие между контролем и опытов в содержании АБК были незначительными, тогда как у опытных растений поражаемого сорта оно в 1,6 раза превышало контроль. По результатам наших опытов более выраженная реакция на облучение красным светом была у луковиц относительно устойчивого сорта Beauty of Oxford. Соотношение и динамика СК и АБК в их тканях менялась по сравнению с контролем более существенно, чем у поражаемого сорта Yellow Dover. Значительной разницы в изменении углеводного статуса тканей почек возобновления обоих сортов при облучении красным светом не выявлено. Вероятно обработка узкоспектральным светом позволяет растениям подготовиться к переключению метаболических процессов на адаптивный режим при изменении условий окружающей среды и возникновении стрессовых ситуаций. Не исключено, что и само воздействие узкоспектрального света является стрессом для растений и служит медиатором для включения протекторных механизмов. Таким образом, узкоспектральный свет, особенно красной части спектра может влиять на изменение уровня метаболитов, которые инициируют протекторные механизмы, нивелирующие последствия биогенного и абиогенного стресса.



## Физиологические аспекты стимуляции роста микрорастений косточковых пород после адаптации *in vivo*

Корнацкий С.А.

Российский университет дружбы народов, Миклухо-Маклая, 8/2, Москва, Россия  
[vitrolab@rambler.ru](mailto:vitrolab@rambler.ru)

Бесспорно, что основой промышленных насаждений косточковых пород должны быть устойчивые к патогенам сорта и современные технологии их распространения. В сложившейся ситуации в средней полосе России, по эффективности размножения этой группы культур метод *in vitro* не имеет альтернативы.

В научной печати имеется достаточно большое число работ как отечественных, так и зарубежных исследователей, касающихся различных аспектов клонального микроразмножения косточковых культур. Анализ информации показывает, что наибольшие сложности возникали и возникают при адаптации и дорастивании адаптированных микрорастений. Если на стадии адаптации происходящее с растениями, достаточно понятно, то дорастивание растений, полученных посредством культуры тканей, очень проблематично, и, прежде всего, из-за недостаточной изученности вопроса. Как было отмечено в наших, более ранних опытах, практически всегда, микрорастения через 1-1,5 мес. после адаптации прекращали рост, и впадали в состояние покоя. Подобные сложности возникали у многих исследователей, занимавшихся вопросами клонального микроразмножения многолетних растений. Наиболее часто рекомендуется приурочивать адаптацию микрорастений к началу вегетационного периода в естественных условиях или высаживать их под зиму в открытый грунт. Однако, ни то, ни другое не является решением проблемы.

Работы по клональному микроразмножению косточковых пород были начаты в лаборатории культуры тканей Всероссийского селекционно-технологического института садоводства и питомниководства (ВСТИСП, п. Измайлово, Московская обл.) в 1998-2006 годах и продолжены в биотехнологической лаборатории Аграрно-технологического института Российского университета дружбы народов (РУДН, г. Москва) в 2012-2016 годах.

Целью исследований было изучение биологической эффективности кратного моделирования периода покоя в искусственных условиях в течение календарного года для стимуляции роста растений.

Объектами исследований были сорта селекции ВСТИСП – черешня Фатеж, вишня Память Еникеева, слива Смолинка. Базовым был метод клонального микроразмножения с использованием среды Мурасиге-Скуга.

Для адаптации микрорастений использовали автоклавированный субстрат на основе торфа, каждому растению обеспечивали индивидуальный уход, что позволило получить 100%-ный выход адаптированных растений.

В ходе адаптации, по мере развития корневой системы растений в объеме субстрата, отмечался рост их надземной части, который составил в среднем 2,7 см - 3,4 см, в зависимости от породы. Спустя 5-6 недель после высадки микрорастений на адаптацию рост прекратился и растения впали в состояние, аналогичное состоянию покоя в естественных условиях. С данной проблемой мы уже сталкивались ранее в лабораторных условиях при изучении ряда сортов вишни – Память Еникеева, Молодежная и др. При этом, в течение данного периода растения требовали ежедневного полива и ухода. Не лучшей была ситуация после высадки подобных растений в грунт. Миниатюрные растения размером 2-5 см, имеющие соответственно небольшую корневую систему, которая, находясь в верхнем, наиболее пересыхающем слое почвы, была не в состоянии обеспечить водопотерю, тем более что сами растения пребывали в состоянии покоя и не развивались. Это приводило к гибели большого числа из них. По той же причине микрорастения были не конкурентноспособны с сорняками, которые заглушали их, а при прополках часть их еще и выдергивалась вместе с сорняками вследствие плохой якорности. В итоге выпады достигали 60-70% за вегетационный период, а нормальное развитие оставшихся растений происходило только в следующем сезоне после перезимовки в естественных условиях.

Исходя из ситуации, нами был разработан и предложен к использованию в качестве обязательного элемента в технологии клонального микроразмножения косточковых пород прием кратного моделирования периода покоя в искусственных условиях. Суть его в том, что микрорастения, впавшие после адаптации в состояние покоя, подвергали обработке низкими положительными температурами +2...+4°C в климатической камере в течение 2,5 мес. После такого периода покоя в искусственных условиях растения возвращали в светокomнату или теплицу, где через 2-3 дня у растений наблюдалось синхронное активное начало развития и последующий рост, что позволяло получать у исходных растений высотой 5-7 см прирост 20 - 30 см в течение 2-3 недель. Спустя месяц рост снова замедлялся и растениям повторно моделировали условия периода покоя. Использование данной схемы в течение календарного года позволило вырастить исходные микрорастения, например, черешни, до высоты 70-110 см уже в первую вегетацию, вишни - 40-55 см, сливы - 50-60 см.

По итогам исследований нами предложена циклическая схема дорастивания адаптированных микрорастений ряда многолетних растений (с периодом покоя 2-2,5 мес.), выглядящая следующим образом. Микрорастения, высаженные на адаптацию в начале мая, после остановки роста в середине июня перемещают в климатическую камеру для прохождения периода покоя на срок 2,5 мес. Следующий (2-й) цикл вегетации стартует с начала сентября до середины октября. После покоя длительностью 2,5 мес., очередной (3-й) цикл роста длится январь и половину февраля. Третий период покоя, предшествует высадке растений в конце апреля в открытый грунт.

Данная схема может быть ориентирована как на весеннюю высадку растений в открытый грунт, так и скорректирована на осенний период.

**Влияние теплового шока и окислительного стресса на экспрессию генов прохИБИТИНОВ Phb3 и Phb4 и накопление белка Phb3 в зеленых листьях *Arabidopsis thaliana* (L.) Heinh***Коротяева Н.Е., Бельков В.И., Тарасенко В.И., Боровский Г.Б.*Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, ул. Лермонотова, 132, Иркутск, Россия  
[knev73@sifibr.irk.ru](mailto:knev73@sifibr.irk.ru)

ПрохИБИТИНЫ - структурные белки мембран, которые, предположительно, имеют антистрессовые, антиапоптотические и сигнальные функции, а также участвуют в фолдинге специфических мембранных белковых комплексов. Это универсальные белки клеток растений, животных и микроорганизмов, которые присутствуют преимущественно во внутренних мембранах митохондрий и хлоропластов, тонопласте и плазмалемме, отдельные прохИБИТИНЫ были обнаружены в ядерной мембране и клеточной стенке. На примере арабидопсиса было показано, что экспрессия многих генов, которые активируются окислительным, солевым и другими абиотическими стрессами, изменяется при инактивации посредством инсерционного мутагенеза гена, кодирующего прохИБИТИН AtPhb3, что говорит об участии этого белка в регуляции перечисленных стрессовых ответов. Целью данной работы было выяснить, происходят ли изменения количества транскриптов и белков прохИБИТИНОВ арабидопсиса Phb3 и Phb4 в ответ на воздействие тепловым и окислительным стрессом в зеленых листьях арабидопсиса. Было установлено, что после теплового закаливания во взрослых растениях арабидопсиса происходят изменения, способные предотвратить гибель от "жесткого" теплового стресса (50°C, 3 ч.). По результатам количественной ПЦР, независимо от интенсивности температурной обработки, тепловое закаливание слабо влияло на содержание мРНК Phb3 и Phb4 в листьях. По данным Western Blot, ни одна из закаливающих обработок в различных вариантах продолжительности воздействия значительно не повлияла на общее содержание белка Phb3 в листьях, хотя вызывала явное увеличение содержания стрессовых белков Hsp101, Hsp70 и Hsp17,7, что указывает на наличие стрессового ответа. Однако, анализ митохондрий из закаленных растений показал достоверное накопление в них Phb3. Только длительное инкубирование растений арабидопсиса в растворе перекиси водорода вызывало сокращение содержания мРНК Phb3 и Phb4 по сравнению с растениями, погруженными в воду. Ни одна из обработок перекисью не приводила к видимому изменению содержания белка Phb3, хотя длительное инкубирование вызывало накопление Hsp17,7. Подавление содержания транскриптов и отсутствие реакции на уровне белка в ответ на обработку перекисью говорит о том, что эта сигнальная молекула не индуцирует накопление прохИБИТИНОВ. Таким образом, на уровне транскриптов и белков показано, что общее содержание Phb3 в листьях арабидопсиса в условиях данного тестирования практически не изменяется под действием теплового закаливания различной интенсивности, хотя происходит явный рост содержания этого прохИБИТИНА в митохондриях. Количественные изменения содержания Phb3 мембран митохондрий в условиях теплового стресса могут изменять характеристики митохондриальных мембран и влиять на устойчивость митохондрий к гипертермии, а также на осуществление этими органеллами ретроградной регуляции стрессового ответа.

## Выявление генов стрессоустойчивости риса с помощью ПЦР-анализа

*Костылев П.И., Краснова Е.В., Дубина Е.В.*

ФГБУН Аграрный научный центр «Донской», Научный городок, 3, Зерноград, Ростовская обл., Россия  
[p-kostylev@mail.ru](mailto:p-kostylev@mail.ru)

Различные стресс-факторы являются основными препятствиями на пути расширения производства риса в мире. Одна пятая часть орошаемых земель в мире испытывает неблагоприятное воздействие высокой солености почвы. Снижение урожайности на засоленных почвах может быть преодолено путем создания и внедрения в с.-х. производство сортов риса с генами солеустойчивости, основным из которых является *Saltol*.

Ген *Sub1* регулирует реакцию клеток растений на этилен и гиббереллин, приводя к ограничению в потреблении углеводов и покою побегов под водой, что способствует толерантности к погружению. В России этот ген можно использовать для создания сортов, имеющих преимущество перед сорными растениями при большом слое воды. Во всех странах мира к наиболее опасным грибковым заболеваниям риса относится пирикулярриоз. Наиболее эффективным способом защиты риса являются устойчивые сорта. Использование ДНК-маркеров позволяет ускорить оценку и проводить отбор без фенотипической оценки, на ранних стадиях, независимо от внешних условий, позволяя оценивать генотипы напрямую, а не через фенотипические проявления, что реализуется в ускоренном создании сортов, обладающих комплексом ценных признаков. Поэтому актуальным является создание с помощью маркирования новых сортов риса.

Цель работы: создание с использованием ДНК-маркеров и ПЦР-анализа исходного материала риса для селекции высокопродуктивных сортов, устойчивых к биотическим и абиотическим стресс-факторам среды.

Материалы и методы исследования. В качестве доноров гена толерантности к засолению *Saltol* использовали образцы IR 52713-2B-8-2B-1-2, IR 74099-3R-3-3 и NSIC Rc 106. В качестве доноров гена устойчивости к затоплению использовали сорта с локусом *Sub1A*: Br-11, CR-1009, Inbaga-3, TDK-1. При переносе генов устойчивости к пирикулярриозу использовали линии C101-A-51 (Pi-2), C101-Lac (Pi-1, Pi-33), IR-58 (Pi-ta), Mогоberekan (Pi-b). Была проведена гибридизация чувствительных к стресс-факторам отечественных сортов Новатор, Вираз, Боярин с линиями – донорами генов интереса. В работе использованы микросателлитные маркеры. Идентификацию генов проводили методом молекулярного маркирования с использованием специфичных праймеров. ПЦР продукты разделяли с помощью электрофореза в 2,5% агарозном геле.

Результаты и их обсуждение. В процессе работы в 2013-2016 годы проведены скрещивания и получены гибриды F<sub>1</sub>-F<sub>4</sub> сорта Новатор с донорными сортами риса, несущими гены *Saltol* и *Sub 1*. Гибриды F<sub>2</sub> существенно варьировали по количественным признакам: вегетационному периоду (от скороспелых до нецветущих), высоте растений (75-122 см), длине метелки (14-25 см), числу выполненных зерен (80-206 шт.), числу колосков (99-300 шт.), плотности метелки (4,4-16,6 шт./см), массе 1000 зерен (26,3-34,9 г), массе зерна с метелки (2,1-5,5 г) и др.

Расщепление по генам *Saltol* не укладывалось в рамки менделевского, так как выборка была нерепрезентативной вследствие отбора. Преобладали растения с рецессивными аллелями гена и гетерозиготы, а солеустойчивых доминантных гомозигот было меньше ожидаемого количества. Это связано со сцеплением генов *Saltol* с нежелательными генами: фоточувствительностью, позднеспелостью, осыпаемостью колосков, остистостью.

Гибриды от скрещивания сорта Новатор с донорами гена *Sub 1* в F<sub>1</sub> характеризовались высокой степенью стерильности (90-95%) и бурой окраской цветковых чешуй, что свидетельствует о значительных генетических различиях между родительскими формами. Во втором поколении наблюдали огромный спектр расщепления по вегетационному периоду, высоте растений, длине и форме метелки, количеству колосков, остистости.

Такого большого размаха изменчивости не наблюдается у других культур. Это связано с генетической и эколого-географической удаленностью скрещиваемых форм. В каждой комбинации отобрали около 400 растений для морфометрического и генетического анализа. Среди гибридов F<sub>2</sub> удалось отобрать лучшие растения по многим признакам, совмещающие в себе скороспелость, оптимальную высоту растений, хорошую озерненность метелок, неосыпаемость и фертильность колосков. После ПЦР-анализа листьев у каждого из четырех гибридов выделены формы с геном устойчивости к затоплению *Sub 1*. У гибридов Inbaga-3 × Новатор и TDK-1 × Новатор расщепление прошло в соотношении примерно 3:1, т.е. близко к менделевскому. Эти образцы с генами *Saltol* и *Sub 1* репродуцированы в 2015-2016 гг. и из них отобраны лучшие скороспелые линии риса для селекционной работы, пригодные для выращивания в Ростовской области.

На основе использования маркерной селекции нами проведено введение 5 генов устойчивости к пирикулярриозу в отечественные сорта риса, адаптированные к агроклиматическим условиям рисосеяния юга России. Серия скрещиваний позволила получить линии риса на основе сортов Боярин и Вираз с пирамидированными генами устойчивости к пирикулярриозу в гомозиготном состоянии. Сначала были получены гибриды с тремя донорами устойчивости к пирикулярриозу, несущими гены Pi-1, Pi-2, Pi-33, которые скрестили с донорами генов Pi-ta и Pi-b для объединения 5 генов. По результатам ПЦР-анализа удалось выделить образцы риса, которые были гомозиготными по всем пяти доминантным аллелям резистентности к пирикулярриозу (Pi-1, Pi-2, Pi-33, Pi-ta, Pi-b). Внедрение таких сортов в производство позволит избежать эпифитотийного развития болезни, сохранить биологическую урожайность риса и получить экологически чистую сельхозпродукцию.

**Влияние засоления на структурно-функциональные характеристики представителей рода *Salsola* с C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub> типом фотосинтеза****Котеева Н.К., Вознесенская Е.В., Эдвардс Дж.Э.\***

Ботанический институт им. В.Л. Комарова. Ул. Проф. Попова, 2, Санкт-Петербург, Россия;

\*Вашингтонский Государственный университет. Пульман, штат Вашингтон, США

[nkoteyeva@binran.ru](mailto:nkoteyeva@binran.ru)

Изучено влияние степени засоления почвы на структурные, физиологические и биохимические особенности фотосинтетического аппарата у представителей рода *Salsola* с C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub> промежуточным типом фотосинтеза: 3х марокканских видов (*S. deschaseauxiana*, *S. gymnomaschala*, *S. verticillata*) и *S. divaricata* с Канарских островов. Для выявления специфичности ответной реакции в качестве контроля использовались C<sub>3</sub> *S. webbii* и C<sub>4</sub> *S. oppositifolia*. Растения выращивались при одинаковых температурных и световых режимах и поливались 1 раз в неделю 400 мМ раствором NaCl.

Использование флуоресцентного маркера на внутриклеточное накопление соли CoroNa Green, а также элементный анализ на уровне сканирующей электронной микроскопии (SEM EDAX, *Scanning Electron Microscopy with Energy Dispersive X-Ray Analysis*) показали значительное накопление соли в вакуолях водозапасающей ткани с одновременным возрастанием осмолярности тканей листа. Тем не менее, анализ параметров газообмена показал высокую солеустойчивость фотосинтеза у нескольких модельных видов. В условиях засоления происходит значительное снижение углекислотного компенсационного пункта (УКП), при этом показатели темнового дыхания не меняются, что говорит о том, что снижение УКП может быть связано с повышением эффективности рефиксации углекислого газа.

Вестерн блот анализ показал значительное возрастание экспрессии ФЕП-К у промежуточных видов и некоторое возрастание НАД-МЭ, при этом изменений в содержании Рубиско не наблюдается. Однако увеличение содержания ФЕП-К не может полностью объяснить кардинальный сдвиг УКП.

Изучение анатомии листа у промежуточных видов показало, что в условиях высокой освещенности и при поливе солью наблюдается укорочение клеток гиподермального слоя, что характерно для C<sub>4</sub> видов. При этом в условиях засоления значительно увеличивается толщина листа за счет большего объема водозапасающей ткани, расположенной в центре.

Таким образом, под воздействием засоления некоторые структурные, физиологические и биохимические параметры у видов с промежуточным типом фотосинтеза смещаются в сторону, характерную для C<sub>4</sub> видов. Это позволяет считать засоление в совокупности с высокой инсоляцией одними из основных движущих сил в эволюционировании от C<sub>3</sub> к C<sub>4</sub> в роде *Salsola*.

Проект поддержан грантом РФФИ 15-04-03665 а

## Механизмы солеустойчивости злаков с солевыводящими железками

Котеева Н.К., Вознесенская Е.В., Эдвардс Дж.\*

Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН. Проф. Попова, 2, Санкт-Петербург, Россия

\*Вашингтонский Государственный Университет. Пуллман, США

[nkoteyeva@binran.ru](mailto:nkoteyeva@binran.ru)

Механизмы устойчивости к засолению были проанализированы у трех видов злаков (*Oryza (=Porteresia) coarctata*, *Spartina anglica*, *Urochondra setulosa*), способных выводить излишки соли с помощью специализированных секреторных структур. Были изучены анатомия листа и ультраструктура солевыводящих железок, особенности газообмена, экспрессия основных фотосинтетических ферментов и содержание пигментов, содержание воды, осмолярность, накопление осмолитов (пролина и глицин-бетаина) и экспрессия бетаиновой альдегиддегидрогеназы, участвующей в синтезе глицин-бетаина. Сравнение проводилось между растениями, выращиваемыми без соли и при поливе 200 mM NaCl.

Показано, что несмотря на различия в типе фотосинтеза (*S. anglica* и *U. setulosa* C<sub>4</sub> виды, а *O. coarctata* – C<sub>3</sub>), все три изученных вида имеют высокую устойчивость и даже индукцию фотосинтеза при выращивании с NaCl. При этом экспрессия основных фотосинтетических ферментов (PPDK, PEPC, NAD-ME, PEP-CK, Rubisco) и фермента фотореспираторного цикла, глициндекарбоксилазы, значительно не изменяется при засолении. Солевыводящие железки расположены на обеих сторонах листа у *S. anglica* и *U. setulosa*, и только на адаксиальной – у *O. coarctata*. Изученные виды значительно отличаются по анатомии и ультраструктуре железок: они двуклеточные у *S. anglica* и *U. setulosa*, и одноклеточные – у *O. coarctata*. При этом железки *U. setulosa* лишены лабиринтов клеточной стенки в апикальной части секреторной клетки в отличие от железок двух других видов. Для *O. coarctata* доказано, что многочисленные волоски на адаксиальной поверхности листа не являются секреторными и не накапливают соль, что опровергает общепринятые представления.

Показано, что три изученных вида накапливают осмолиты в условиях засоления, однако их состав значительно различается. Основным осмолитом *O. coarctata* является пролин при полном отсутствии синтеза глицин-бетаина. *U. setulosa* характеризуется небольшим содержанием пролина, которое несколько повышается в условиях засоления, однако основным осмолитом является глицин-бетаин. У *S. anglica* синтезируются оба осмолита с повышением содержания в ответ на засоление. У *O. coarctata* отсутствует экспрессия бетаиновой альдегиддегидрогеназы; у *U. setulosa* и *S. anglica* отмечается повышение ее экспрессии в условиях засоления.

Таким образом, все три изученных вида устойчивы к засолению в поддержании функции фотосинтеза и водного баланса. Основными механизмами солеустойчивости у них является выведение соли через солевыводящие железки и накопление осмолитов, однако виды отличаются по структуре секреторирующих железок и составу осмолитов. Работа поддержана грантом РФФИ 16-16-00089.

## Влияние фитонцидов растений душицы обыкновенной (*Origanum vulgare* L.) на культуру бактерий энтомопатогенного штамма *Bacillus thuringiensis* 787

Крыжко А.В., Кузнецова Л.Н.

ФГБУН Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма, 295453, Крым, г. Симферополь, ул. Киевская, 150  
[solanum@ukr.net](mailto:solanum@ukr.net)

Биоинсектициды на основе штаммов *B. thuringiensis* являются перспективными для использования в агроценозах душицы обыкновенной (*Origanum vulgare* L.), так как для данного вида растений характерно наличие листогрызущих вредителей, а применение химических средств защиты растений на лекарственных и эфиромасличных растениях строго ограничено. Но при этом необходимо учитывать, что при внесении *B. thuringiensis* в агроэкосистемы, на бактерии влияет ряд внешних факторов, в частности фитонциды и экстрактивные вещества растений, которые могут не только подавлять рост споровых микроорганизмов но и влиять на их развитие. Известно, что эфирное масло душицы обыкновенной может полностью угнетать рост некоторых бактерий рода *Bacillus*. Таким образом, применение биопрепаратов на основе штаммов *B. thuringiensis* на душице может быть сопряжено с рядом особенностей.

Целью исследований было изучить влияние растений душицы обыкновенной (*Origanum vulgare* L.), которые обладают рядом бактерицидных веществ (карвакрол, тимол,  $\alpha$ -терпинеол и другие соединения) на энтомопатогенный штамм *B. thuringiensis* 787, перспективный для разработки биопрепарата. Изучали динамику сохранности спор энтомопатогена на листьях и влияние экстрактивных веществ на морфологию культур данного штамма.

Работа проводилась на базе Отдела сельскохозяйственной микробиологии ФГБУН НИИСХК. Материалом для исследований служила жидкая споровая культура штамма *B. thuringiensis* 787 и сортообразцы душицы обыкновенной: 100.1 с высоким содержанием карвакрола (75,59%); гибрид г4, содержащий 52,04% карвакрола; гибрид №2, содержащий 59,85%  $\alpha$ -терпинеола и дикий тип №1 герматокрен-D- $\beta$ -кариофиллен. Количественную оценку действия летучих фракций фитонцидов на бактерии и антимикробное действие экстрактивных веществ определяли методами Е.М. Данини (1952).

Количественная оценка действия летучих фракций фитонцидов душицы исследованных сортообразцов на штамм *B. thuringiensis* 787 на фенофазах вегетативного развития, бутонизации и цветения показала следующее. Максимальное влияние на бактерии штамма, по сравнению с контролем, отмечали в варианте с исследованием летучих фракций фитонцидов сортообразца 100.1 на фенофазах вегетативного развития и бутонизации (на 67, 9 и 47,7% соответственно). На фенофазе цветения, по сравнению с контролем, летучие фракции фитонцидов значительного влияния на количество патогена не оказывали. Образец гибрида №2 имел высокую фитонцидную активность весь исследованный период вегетации – количество колоний на в среднем было на 35,6% ниже, чем в контроле. Летучие фракции фитонцидов душицы обыкновенной дикого типа оказывали активное угнетающее действие на исследуемый показатель только в фенофазу вегетативного развития (на 37,7%). Наименее активное антимикробное действие на всех исследованных фенофазах оказывали фитонциды сортообразца г4 - количество колоний бактерий уменьшалось в среднем на 13,2%.

Влияние экстрактивных веществ растений душицы на культуру штамма *B. thuringiensis* 787 исследовали посредством их диффузии в толщу питательной среды. В чашках Петри с МПА макроскопическому анализу подвергали колонии, взятые в зоне угнетения роста. Контроль – колонии с чашек, не подвергавшиеся воздействию экстрактивных веществ.

Показано, что колонии бактерий штамма 787 в опытных вариантах, в отличие от контрольных, имели меньший диаметр и формировали ярко выраженную ареолу и кратерообразный профиль. Так колонии, испытывавшие влияние экстрактивных веществ сортообразца 100.1 в фенофазе бутонизации были в диаметре в 3,1 раза, а на фазе цветения – в 1,7 раза меньше контрольных. Колонии, сформировавшиеся в зоне угнетения под воздействием экстрактивных веществ сортообразца №2, в фенофазе бутонизации были в 1,9 раз, а на фенофазе цветения в 2,1 раз меньше контрольных. Под воздействием экстрактивных веществ душицы дикого типа колонии образовывались в среднем в 1,6 раз меньше контрольных. Наименее на исследуемый показатель влияли экстрактивные вещества сортообразца г4. В фенофазах бутонизации и цветения воздействие фитонцидов способствовало росту колоний в диаметре в 1,5 раза меньше контрольных.

Таким образом, эффект угнетения бактерий энтомопатогенного штамма *B. thuringiensis* 787 отмечен под влиянием сортообразцов душицы обыкновенной, содержащих в составе эфирного масла повышенное количество (более 52%) антибактериальных веществ (карвакрола и  $\alpha$ -терпинеола), что необходимо учитывать при исследовании патогенов на основе *B. thuringiensis* против вредителей культуры.

**Гормональная регуляция ростового ответа корней на изменение уровня минерального питания****Кудоярова Г.Р., Высоцкая Л.Б., Иванов И.И., Коробова А.В., Веселов С.Ю.\***

Уфимский институт биологии РАН, пр. Октября, 69, Уфа, 450054, Россия

\*Башкирский государственный университет, ул. Валиди, 32, Уфа, 450076, Россия

[guzel@anrb.ru](mailto:guzel@anrb.ru)

Изменение роста и развития корневой системы оптимизирует поглощение растением элементов минерального питания и воды, обеспечивая продуктивность растений. Объявленная Nature «зеленая революция под землей» ознаменовалась резким возрастанием интереса исследователей к корневой системе, что нашло выражение в концепции «корни продовольственной безопасности» (root for food security), интерпретируемой в прямом контексте.

Участие гормонов в регуляции роста и развития корней является объектом пристального внимания. В многочисленных публикациях показано влияние минерального питания на концентрацию гормонов в растениях, а гормональные ответы связывают с изменением роста и развития корней. Вместе с тем, эта информация получена при изучении общего содержания гормонов в органах растений. В данной работе приведены результаты использования иммуногистохимической локализации гормонов с помощью специфических антител к ауксинам, цитокининам и абсцизовой кислоте (АБК) в тканях и клетках растений, что позволяет выявить участие гормонов в регуляции роста и развития корней на клеточном уровне.

Изучено влияние локального минерального питания на растения пшеницы. В естественных условиях ионы неравномерно распределены в почве и ветвление корней в очаге с повышенным содержанием макроэлементов обеспечивает их эффективное поглощение, в то время как вне очага питания активизируется удлинение корней, что позволяет им поглощать воду из нижних слоев почвы, повышая засухоустойчивость растений. Этот феномен лежит в основе положительного эффекта от локального внесения удобрений, повышающего устойчивость растений к засухе. Модельные опыты в гидропонической культуре с разделением корней между отсеками с низкой (НС - низкосолевые корни) и высокой (ВС - корни) концентрацией макроэлементов (split root system) адекватно имитируют стимуляцию ветвления ВС-корней, и удлинения НС-корней. Показано быстрое повышение концентрации ауксинов в ВС-корнях и их локализация в примордиях боковых корней. Поскольку хорошо известна способность ауксинов стимулировать ветвление, полученные результаты позволяют объяснить повышенное ветвление ВС-корней накоплением ауксинов в примордиях боковых корней. Сравнение результатов иммунолокализации цитокининов в кончике главного корня растений пшеницы показало их более низкое содержание в клетках апексов НС-корней по сравнению с ВС-корнями. Поскольку известно, что цитокинины подавляют рост корней в длину, снижением их уровня в НС-корнях можно объяснить активацию удлинения НС-корней.

Концентрация нитратов в почве играет важную роль в регуляции роста и развития корней. Известно, что переносчик нитратов NRT1 выполняет функцию сенсора этих анионов, запуская индукцию генов нитратного ответа. Нами показано, что удаление нитрата из питательной среды вызывает быструю активацию удлинения корней, что сопровождается снижением концентрации цитокининов в корнях растений арабидопсиса экотипа COL. Эта ростовая реакция имеет важное адаптивное значение, поскольку подвижные нитрат ионы вымываются дождями в нижние слои почвы. У мутанта *chl1-5* с нарушением функции NRT1 содержание цитокининов на среде с нитратами было ниже, чем у растений исходного экотипа, а удаление нитратов из среды не влияло на содержание цитокининов в корнях *chl1-5*, и, соответственно, у мутанта не было зарегистрировано активации удлинения корней под влиянием дефицита нитратов. Эти результаты подтверждают значение пониженного уровня цитокининов в стимуляции удлинения корней и роль NRT1 в регуляции концентрации цитокининов в корнях при изменении уровня нитратов.

Изменение распределения ассимилятов в пользу корней является еще одной важной адаптивной реакцией на дефицит элементов минерального питания. Ранее было показано, что накопление АБК может стимулировать отток ассимилятов в корни при дефиците минерального питания. Однако роль этого гормона в реакции растений на дефицит фосфатов не была доказана. Для того чтобы выявить участие АБК в ростовом ответе растений на недостаток фосфатов, мы сравнили ростовую реакцию на удаление этих ионов из питательной среды у дефицитного по АБК мутанта ячменя AZ34 и его родительского сорта Steptoe. У растений Steptoe дефицит фосфатов вызывал увеличение соотношения массы корней к массе побега по сравнению с растениями, которые получали достаточное количество фосфатов. Таким образом, у этих растений проявлялась характерная реакция на дефицит макроэлементов, т.е. относительная активация роста корней. У дефицитных по АБК растений AZ34 не было зарегистрировано изменение соотношения массы корень/побег под влиянием дефицита фосфатов, что подтверждает важную роль этого гормона в активации роста корней при данном воздействии.

Таким образом, использование метода иммуногистохимической локализации гормонов, мутантных растений с нарушением синтеза гормонов и рецепции уровня нитратов свидетельствует о важной роли изменения концентрации ауксинов, цитокининов и АБК в клетках растений для регуляции ростового ответа корней на доступность элементов минерального питания.

Работа выполнена при частичной поддержке гранта РФФИ 15-04-04750.

## Влияние листовенничных экстрактов на антиоксидантную систему и продуктивность сои

*Кузнецова В.А.\*\*\*\*, Михайлова М.П.\*\*, Иващенко Л.Е.\*\*\**

\*Акционерное общество «Аметис»;  
\*\*ФГБУН Всероссийский научно-исследовательский институт сои;  
\*\*\*ФГБОУ ВО Благовещенский государственный педагогический университет  
[kuzvika3385@yandex.ru](mailto:kuzvika3385@yandex.ru)

Соя - самая распространенная масличная культура в мире. Современное соеводство в Российской Федерации в основном распространено на Дальнем Востоке, основным регионом выращивания является Амурская область. Резко континентальный климат Амурской области предъявляет повышенные требования к условиям выращивания. В оптимизации продукционного процесса у бобовых растений, в том числе, у сои большое значение придается агроприемам регулирования сбалансированности ростовых и репродуктивных процессов, углеродного и минерального питания, а также повышения адаптивности растений к различным стрессовым факторам в разные периоды онтогенеза. Для этих целей, наряду с традиционными агромероприятиями, используются приемы обработок растений физиологически активными соединениями – элиситорами, проявляющие свое действие в микроколичествах. Они позволяют воздействовать на интенсивность и направленность физиологических процессов в растениях, повышать их урожайность, улучшать качество, условия уборки и хранения продукции.

Элиситоры представляют собой сигнальные соединения биотической и абиотической природы, в ответ на которые в растениях происходит активация собственных защитных механизмов, что позволяет в полной мере реализовать генетически заложенный потенциал устойчивости. Известно множество классов химических соединений, обладающих элиситорными свойствами, наименее изученными являются элиситоры, получаемые путем экстракции из листовенницы даурской. Одним из таких препаратов – ЭкоЛарикс, действующим веществом которого является экстракт из древесины комлевой части листовенницы – дигидрокверцетин, относящийся к биофлавоноидам. Под его воздействием у растения сои повышается активность пероксидаз, увеличивается содержание изофлавонов, что активизирует антиоксидантную систему и способствует повышению устойчивости растения. Этот регулятор роста способствует увеличению содержания хлорофилла в растениях, а, следовательно, и усилению фотосинтеза, что повышает продуктивность выращиваемой культуры. Обработка семян перед посевом и опрыскивание растений сои по вегетации сорта Даурия препаратом ЭкоЛарикс в условиях Амурской области положительно влияли на ростовые и формообразовательные процессы. Под воздействием препарата всхожесть семян повысилась на 2-3 %, сохранность растений к уборке - на 2 %. Существенно увеличилась масса бобов (на 0,8-1,0 г/раст.) и семян (на 0,5- 1,0 г) на растении, масса 1000 семян (на 6,0-7,0 г). Наиболее крупные семена сои отмечены при применении препарата ЭкоЛарикс нормой 20 г/т + 8 г/га.

Также эффективным регулятором роста растений является препарат ЭкстраКор, представляющий собой экстракт из коры листовенницы. Действующими веществами данного препарата являются дигидрокверцетин, пара-оксибензойная кислота и группа веществ – проантоцианидины. Такой сбалансированный состав препарата, включающий несколько природных действующих веществ, характеризует его высокую антистрессовую и рострегулирующую активности, что способствует повышению антиоксидантного статуса сои и увеличению ее продуктивности.

В результате проведенных нами исследований показано, что элиситоры из листовенницы вызывают снижение скорости окислительных процессов в растениях сои, подвергнутых оксидативному стрессу, что свидетельствует о запуске сигнальных систем, приводящих к увеличению устойчивости растений к действию стрессовых факторов и повышению ее продуктивности.



## **Адаптивные реакции растений сои к действию гербицидного стресса**

*Кузнецова В.А., Михайлова М.П. \*, Каманина Л.А. \**

Акционерное общество «Аметис»;  
\*ФГБУН Всероссийский научно-исследовательский институт сои  
[kuzvika3385@yandex.ru](mailto:kuzvika3385@yandex.ru)

В настоящее время сельскохозяйственная отрасль становится все более зависимым от экологических факторов антропогенного происхождения, которые в значительной степени изменяют свойства почвы, продуктивность растений и качество продукции. При этом на практике невозможно обойтись без применения пестицидов, и в частности гербицидов. Важным аспектом является выявление действия гербицидов на физиологические процессы, происходящие в период роста и развития сои на начальной стадии онтогенеза. К числу гербицидов, широко применяемых для уничтожения сорняков в Амурской области, относятся Раундап и Фронтьер. Данные гербициды являются высокоэффективными, позволяют уничтожить наиболее распространенные сорные растения. При этом защищаемая культура испытывает на себе их негативное воздействие. Стресс, вызываемый гербицидами, может приводить к снижению урожайности до 50 %. Как известно, при стрессовых состояниях в клетках растений происходит образование активных форм кислорода (АФК), что вызывает окислительный стресс, который приводит к нарушению физиолого-биохимических процессов. Растительная клетка содержит антиоксидантную систему защиты от АФК, включающая высокомолекулярные соединения. К таким соединениям относится фермент пероксидаза, который осуществляет контроль уровня пероксида водорода и является биоиндикатором устойчивости растений к окислительному стрессу, вызванному действием гербицидов.

Нашими исследованиями по влиянию данных гербицидов на проростки сои установлено, что маркером устойчивости проростков сои к воздействию гербицидов, как неблагоприятного фактора внешней среды, является активность пероксидаз. Выявлено, что исследуемые препараты являются токсичными, при этом ответная реакция проростков сои происходит по-разному. Гербицид Фронтьер в исследуемых концентрациях проявляет токсичность, что характеризуется незначительным снижением ростовых характеристик и небольшим увеличением пероксидазной активности проростков сои.

Высокая токсичность препарата Раундап подтверждена высокой удельной активностью фермента и снижением биометрических характеристик при его влиянии в низких концентрациях. Следовательно, применять данный гербицид необходимо, строго соблюдая рекомендуемые дозы и не допуская попадание гербицида на семена и проростки.

## Особенности функционирования антиоксидантной системы защиты древесных растений в условиях техногенного стресса

Кузьмин П.А.

Набережные Челны, Татарстан

Исследования проведены в г. Набережные Челны, который входит в состав Республики Татарстан, расположенной на территории Среднего Поволжья, вместе слияния двух крупнейших рек Волги и Камы, в зоне достаточного увлажнения. Климат умеренно-континентальный, отличается тёплым летом и умеренно-холодной зимой. Годовое количество осадков в городе составляет в среднем 555 мм. Самый тёплый месяц года – июль (+18...+20 °С), самый холодный – январь (-13...-14 °С). Объект исследования древесные растения: аборигенные виды - клён остролистный (*Acer platanoides* L.), липа мелколистная (*Tilia cordata* Mill.) и береза повислая (*Betula pendula* Roth.); интродуцированные виды - клен ясенелистный (*Acer negundo* L.) и тополь бальзамический (*Populus balsamifera* L.). Изучаемые виды произрастали в городе в составе насаждений различных экологических категорий. Пробные площади закладывали регулярным способом (по 5 шт. в каждом районе, размером не менее 0,25 га). В районах закладки пробных площадей провели отбор почвенных проб (смешанная проба, составленная из индивидуально взятых проб по способу конверта). Проведен расчет относительного жизненного состояния древостоя (ОЖС) по методике В.А. Алексеева. Содержание конденсированных танинов, аскорбиновой кислоты, активность пероксидазы, полифенолоксидазы, аскорбинатоксидазы в листьях древесных растений определяли трижды в течение вегетации.

Повышение степени техногенной нагрузки приводит к возрастанию содержания аскорбиновой кислоты в листьях изучаемых видов древесных растений в насаждениях санитарно-защитных зон промышленных предприятий. Содержание танинов в листьях растений увеличивается в течение периода активной вегетации и достигает максимальных значений в августе. Содержание аскорбиновой кислоты, напротив снижается к концу вегетационного сезона, что свидетельствует о разной роли этих веществ в процессах метаболизма растений. Динамика накопления танинов и аскорбиновой кислоты в листьях древесных растений имеет видовую специфику. Данные биохимических исследований показали, что у аборигенных и интродуцированных видов древесных растений максимальный уровень активности пероксидазы был отмечен в июле. У аборигенных видов березы повислой и клена остролистного динамика была сходной. В техногенных условиях активность пероксидазы в листьях снижалась за весь период активной вегетации. Динамика активности полифенолоксидазы и аскорбинатоксидазы имеет видовую специфику. Аборигенные виды – береза повислая и клен остролистный и интродуцированные виды – тополь бальзамический и клен ясенелистный, произрастающие на территории с техногенной нагрузкой, проявляли общую тенденцию в увеличении активности полифенолоксидазы за весь период активной вегетации, с июня по август.

Таким образом, в работе показана видовая специфика функционирования антиоксидантной системы защиты древесных растений в условиях техногенного стресса.

## Цитологические и физиологические характеристики резистентности плодов яблони, культивируемых на разных высотах в горах

Кумахова Т.Х., Пикуленко М.М.\*

Российский государственный аграрный университет им. К.А. Тимирязева РАН. Тимирязевская ул., 10, Москва, Россия

\*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Научно-учебный Музей земледения, Ленинские горы, 1, Москва, Россия  
[tkumachova@gmail.com](mailto:tkumachova@gmail.com), [pikulenkomarina@mail.ru](mailto:pikulenkomarina@mail.ru)

Вопросы устойчивости растений к действию различных факторов внешней среды в последние годы привлекают все большее внимание исследователей, в связи с наблюдаемыми перманентно изменяющимися климатическими условиями. Поэтому выявление маркеров цитологических и физиологических приспособительных реакций растений к неблагоприятным условиям среды обитания является актуальной проблемой для фундаментальных и прикладных исследований.

Известно, что основные физиологические характеристики растений, как и всех других живых организмов определяются особенностями организации их клеток и внутриклеточных компартментов. Ранее нами показано, что функциональная активность хлоропластов, как основного продуцента энергии в клетках плодов яблони на ранних этапах развития имеет довольно высокий уровень фотосинтетической активности (ФСА), который также может изменяться в зависимости от высоты произрастания плодовых растений [1]. Однако отсутствие исчерпывающих материалов о взаимодействиях внутриклеточных компартментов плодов при различных стрессовых ситуациях, в частности горных условиях, характеризующихся высокой интенсивностью солнечной радиации, УФ-лучами и резкими колебаниями температуры в течение суток, не дает полного представления о структурных и физиологических адаптациях плодовых растений в целом. Между тем, эти сведения в совокупности с другими биологическими особенностями, могут быть весьма полезными при отборе наиболее пластичных к резким изменениям климатических условий форм культурных растений. Целью данной работы было изучение ультраструктурных особенностей клеток околоплодника яблони, выращенных на разных высотах, а также выявление цитологических и физиологических приспособительных маркеров.

Зрелые плоды яблони (*Malus domestica* Borkh.) для исследований был собран на Северном Кавказе (Кабардино-Балкария) в степной (300 м над уровнем моря) и горной зонах (1200 м). Образцы отбирали из средней части кроны трех модельных деревьев. Подготовку материала для электронно-микроскопических исследований проводили по модифицированной нами методике [2].

Как показали проведенные электронно-микроскопические исследования, в клетках плодов, выращенных на высоте 1200 м над уровнем моря, по сравнению с образцами на 300 м, наряду с высокой ультраструктурной организацией, происходит специфическая поведенческая реакция трех компартментов, в частности хлоропластов, митохондрий и пероксисом. Наблюдается образование комплексов – хлоропласт, митохондрия и пероксисома, вероятно, обусловленное необходимостью обеспечения энергетическими ресурсами непрерывности метаболических процессов в течение суток. Аналогичное поведение хлоропластов, митохондрий и пероксисом были обнаружены нами в клетках листьев и стареющих плодах (при хранении) этих же плодовых деревьев. Известно, что классическая схема метаболизма гликолата включает согласованную работу этих трех компартментов. Метаболизм гликолата, в свою очередь, играет ключевую роль в фазе развития растений, при этом интенсивно протекающий гликолатный цикл может значительно снизить продуктивность  $C_3$  – растений, к которым и относится яблоня домашняя. Анализируя литературные данные и полученные нами материалы, можно полагать, что для комплексной оценки резистентности растений, плодов требуется одновременное использование разных подходов, методов в дальнейших исследованиях.

### Литература

Кумахова Т.Х., Булычев А. А., Крупенина Н. А., Пикуленко М. М. Активность фотосинтетического аппарата как маркер структурно-функциональных изменений клеток растений при адаптации к горным условиям на примере плодов яблони // Доклады ТСХА. 2008. Вып. 280. С. 122-126.

Кумахова Т.Х., Меликян А.П. Ультраструктура кутикулы плодов сортов *Malus domestica* (*Rosaceae*). Ботанический журнал, 1989. Т. 74. № 3. С 328-332.

## Иммунолокализация цитокинина в эффективных и неэффективных клубеньках гороха

Кусакин П.Г., Китаева А.Б., Цыганов В.Е.

ФГБУН «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», 196608, ш. Подбельского, 3, г. Пушкин 8, г. Санкт-Петербург, Россия  
[kussakin@gmail.com](mailto:kussakin@gmail.com)

Цитокинины являются важнейшими регуляторами развития растений, в том числе и процесса клубенькообразования. Известно, что данный гормон принимает участие в самых ранних этапах формирования клубенька. Так, благодаря цитокинину начинаются деления в клубеньковом примордии, формируется локальный максимум ауксина, а клеточный ответ на него тесно связан с работой ключевых транскрипционных факторов, определяющих начало образования клубенька. Однако относительно мало изученным остаётся вопрос о влиянии цитокининов на более поздние события клубенькообразования.

В данной работе с использованием иммунолокализации и конфокальной лазерной сканирующей микроскопии было изучено распределение цитокинина транс-зеатина в двух- и четырёхнедельных клубеньках гороха. Были использованы исходные линии SGE и Sprint-2, а также полученные на их основе мутанты, блокированные на различных стадиях развития клубенька SGEFix<sup>-1</sup> (*sym40*) (формирование гипертрофированных инфекционных капель и нарушения в дифференцировке бактериоидов), SGEFix<sup>-2</sup> (*sym33*) (отсутствие выхода бактерий в цитоплазму растительной клетки), SGEFix<sup>-3</sup> (*sym26*) (преждевременная деградация симбиотических компартментов), и Sprint-2Fix<sup>-1</sup> (*sym31*) (отсутствие дифференцировки бактериоидов).

В двухнедельных клубеньках гороха исходных линий максимум транс-зеатина наблюдался в меристеме и зоне инфекции, а также в проксимальной части зоны азотфиксации. В зоне инфекции метка накапливалась в молодых инфекционных нитях и каплях. В четырёхнедельных клубеньках наблюдалось снижение интенсивности метки, особенно в зоне азотфиксации.

В двухнедельных клубеньках мутанта SGEFix<sup>-1</sup> (*sym40*) максимум транс-зеатина наблюдался в меристеме, зоне инфекции и периферических тканях. Метка активно аккумулировалась в ядрах инфицированных клеток. В четырёхнедельных клубеньках также падала интенсивность метки, она преимущественно наблюдалась в меристеме. Схожий характер распределения транс-зеатина наблюдался и в клубеньках, образованных на корнях мутанта Sprint-2Fix<sup>-1</sup> (*sym31*). В двухнедельных клубеньках мутанта SGEFix<sup>-2</sup> (*sym33*) максимум транс-зеатина наблюдался преимущественно в меристеме, данный паттерн сохранялся и у четырёхнедельных клубеньков. У мутанта SGEFix<sup>-3</sup> (*sym26*) как у двухнедельных, так и четырёхнедельных клубеньков максимум распределения транс-зеатина присутствовал в меристеме, зоне инфекции, а также в проксимальной части зоны, соответствующей зоне азотфиксации клубеньков исходной линии.

Проведенный анализ позволяет предположить, что на поздних стадиях развития клубенька цитокинин необходим для дифференцировки инфицированных клеток и бактериоидов.

Работа поддержана РФФИ 16-16-10035

## Получение первичных культур клеток *Dracocephalum palmatum* Steph.

Кучарова Е.В., Охлопкова Ж.М.

Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова. Белинского ул., 58, Якутск, Россия  
[oleneek@mail.ru](mailto:oleneek@mail.ru)

Представители рода *Dracocephalum* известны как эфирномасличные растения, широко применяются в народной медицине при различных заболеваниях. Лекарственные свойства обусловлены содержанием в надземной фитомассе растений фармакологически востребованных биологически активных веществ и вторичных метаболитов. На территории Якутии произрастают пять видов рода *Dracocephalum*. Для данной работы был выбран *Dracocephalum palmatum* Steph. Это многолетнее вечнозеленое растение с ползучими побегами, образует очень плотную дернину. Листья и побеги опушены. Цветоносы приподнимаются над дерниной на 10-15 см. Цветки фиолетовые, сидят в мутовках. Семена созревают в июле. Зимует с зелеными листьями. Встречается в северо-восточных районах Якутии. Растет на сухих каменисто-щебнистых склонах, скалах, в каменистых тундрах, горных степях. Адаптация и высокая скорость роста в условиях сплошного мерзлотного почвенного слоя и короткого вегетационного срока, химический компонентный состав и антиоксидантная активность позиционируют это растение и для клеточных культур. В условиях лабораторного культивирования можно получать высококачественные растения, свободные от инфекций и вредителей, генетически идентичные материнскому растению. Реализация данного подхода возможна при разработке оптимальных условий культивирования *in vitro*, включая получение асептических культур и регенерацию растений. В литературе отсутствует информация о получении культур клеток *Dracocephalum palmatum* Steph.

Целью настоящей работы является разработка эффективного метода для размножения растений *Dracocephalum palmatum* Steph. Для получения стерильных проростков *D. palmatum* были использованы семена, собранные во время экспедиций на территории Оймяконского района Республики Саха (Якутия). Семена после стратификации обезжиривали в 96%-ном этаноле и стерилизовали раствором перекиси водорода в течение 10 мин, после чего многократно промывали стерильной водой и переносили для проращивания в чашки Петри на питательную среду без гормонов. Для получения первичных культур клеток использовали листья трехнедельных проростков *D. palmatum*, которые отделяли в стерильных условиях. Нами была использована питательная среда МС с соответствующими концентрациями гормонов 2,4-Д, кинетин. Каллусогенез проводили при контролируемых условиях: 20-22°C, 16/8-часовой фотопериод. Первые признаки недифференцированного роста в виде культур клеток небольшого размера стали проявляться на второй неделе. Полученная культура клеток была светло-зеленого цвета и мягкой консистенции. Морфологическое изучение показало преобладание зернистых структур светлой окраски. Размер и жизнеспособность клеток полученных культур рассматривали с помощью анализатора клеток Countess (Invitrogen). Размеры клеток варьировали от 5 до 60 мкм. Жизнеспособность клеток доходила до 92%. Формы клеток рассматривали под микроскопом Primo Star Zeiss со встроенной камерой Axio Cam 5s. Форма клеток была представлена от прямоугольной до изогнутой.

Результаты работы показали, что *Dracocephalum palmatum* Steph. является удобным объектом для получения культур клеток дикорастущих растений и для дальнейшего изучения биохимических свойств.

## Активность каталазы и супероксиддисмутазы в корнях растений картофеля при заражении фитопаразитической нематодой

Лаврова В.В., Матвеева Е.М., Калинкина Д.С.

ФГБУН Институт биологии Карельского научного центра РАН (ИБ КарНЦ РАН), ул. Пушкинская, 11, 185910, Петрозаводск, Россия  
[victoria.v.lavrova@gmail.com](mailto:victoria.v.lavrova@gmail.com)

Антиоксидантные ферменты (каталаза и супероксиддисмутаза) играют важную роль в защите растений от фитопаразитических организмов, оказывая влияние на уровень генерации активных форм кислорода (АФК) и, тем самым, создавая условия для реализации защитных реакций, в том числе реакции сверхчувствительности (СВЧ реакция), определяющей в значительной степени характер паразито-хозяйинных отношений. В настоящее время исследования активности антиоксидантных ферментов растений при заражении представляют особый интерес с точки зрения изучения механизмов индуцированной устойчивости. Исследования проведено на модельной паразитарной системе «Картофель – Картофельная цистообразующая нематода». Материалом служили восприимчивые к нематоды растения картофеля *Solanum tuberosum* L., сорт Невский. Растения выращивали при оптимальной температуре (23°C) (контроль) либо подвергали низкотемпературной обработке (ежесуточное снижение температуры в течение 6 суток с 23 до 5°C на 2 ч в конце ночного периода, ДРОП-обработка). Далее часть растений каждого варианта заражали узкоспециализированным корневым эндопаразитом картофеля *Globodera rostochiensis* Wollenweber, 1923, Behrens, 1975, патотип Ro1 (доза заражения – 10 цист/раст.) и выращивали 1,5 месяца до завершения нематодой жизненного цикла. Детальное исследование проводилось на корнях растений, которые являются органом, куда проникают, где питаются и проходят цикл развития личинки нематоды, и, соответственно, именно в них формируются основные защитные реакции хозяина. Их отбирали для анализа сразу после завершения температурных обработок (0 сутки) и на ключевых этапах жизнедеятельности нематоды (3 сутки – массовое внедрение личинок в корни, 6 сутки – формирование места питания – синцития, 20 сутки – завершение активного питания, 45 сутки – формирование половозрелых особей). Активность каталазы (КАТ) и супероксиддисмутазы (СОД), содержание белка и малонового диальдегида (МДА) определяли общепринятыми методиками. Результаты исследований показали различную динамику активности КАТ и СОД в корнях восприимчивых и ДРОП-обработанных восприимчивых растений картофеля при заражении *G. rostochiensis*. Установлено, что восприимчивые растения в период проникновения личинок в корни, формирования синцития (места питания) и активного питания характеризуются повышенной активностью КАТ и СОД. В то же время на этапе развития личинок (J3, J4) активность ферментов снижалась. При этом достоверных изменений в содержании МДА не установлено. Высокая ферментативная активность на протяжении всего периода заражения нематодой позволяет поддерживать в активном состоянии защиту от окислительного стресса, вызванного внедрением и последующей деятельностью личинок. Однако на начальных этапах становления паразито-хозяйинных отношений это может препятствовать накоплению АФК и запуску защитных реакций, что ведет к развитию восприимчивости растений и успешному развитию паразита. Низкотемпературная обработка растений в прединвазионный период не оказала влияния на активность ферментов и интенсивность образования МДА. Разнонаправленные изменения ферментативной активности отмечены в корнях ДРОП-обработанных растений при последующем их заражении. Так, при проникновении личинок в корни наблюдалось повышение активности КАТ и СОД с последующим ингибированием активности данных ферментов к моменту формирования личинками синцития. Второй пик повышенной активности ферментов зафиксирован в период активного питания нематоды. По мере развития личинок активность КАТ и СОД снижалась до уровня контроля. Достоверное повышение содержания МДА отмечено только на этапе формирования личинками синцития. Установленная динамика активности КАТ и СОД в корнях ДРОП-обработанных растений при заражении свидетельствует о возможности усиленного образования АФК на этапе становления паразито-хозяйинных отношений, и, как следствие, индукции ими перекисного окисления липидов, что ведет к развитию СВЧ реакции – локальной гибели клеток растения в области внедрившихся личинок, и ограничению питания и развития нематоды. Таким образом, кратковременное низкотемпературное воздействие способствует развитию устойчивости растений картофеля к нематоды. Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания (№ 0221-2014-0004, 0221-2014-0030) и частично гранта РФФИ №16-34-00650.

## **Олигосахарины - естественные посредники адаптивных реакций в растениях**

*Ларская И.А., Трофимова О.И., Горшкова Т.А.*

ФГБУН Институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН, 420111, г. Казань, а/я 30, Россия  
[pzl@mail.ru](mailto:pzl@mail.ru)

Адаптация растений к разным неблагоприятным факторам связана с их переходом в качественно новое состояние. Помимо других преобразований, этот процесс вызывает изменения полисахаридного состава клеточной стенки и активности ферментов участвующих в их модификации. С одной стороны это приводит к изменению свойств клеточной стенки, с другой, появляющиеся фрагменты полисахаридов матрикса могут быть вовлечены в регуляцию приспособительных реакций. Нами было показано, что реализация адаптивной программы как при действии закалывающей температуры, так и в условиях создания умеренного водного дефицита проходит при участии олигосахаринов - физиологически активных фрагментов полимеров клеточной стенки.

Фракция олигосахаринов, полученная из проростков пшеницы, подвергнутых низкотемпературному закаливанию, инициировала формирование морозостойкого состояния у озимых растений даже при комнатной температуре, а также обладала способностью повышать эффективность действия АБК. Активность олигосахарина определяли по выживанию проростков по сравнению с необработанным контролем. Выживание измеряли по выходу электролитов после промораживания образцов при различной температуре, определяя температуру гибели 50% проростков ( $LT_{50}$ ).

Другая фракция олигосахаринов, выделенная из проростков гороха, вызывала увеличение количества корней на отрезках корней кукурузы в условиях умеренного водного дефицита, не оказывая влияния при высоких значениях ПЭГ. Новообразование латеральных корней, как способ приспособления растений к изменившимся условиям, возможен благодаря дополнительной активации клеток, потенциально способных к реализации программы развития, но не проявляющих себя в стационарных условиях выращивания. Полученная фракция олигосахаринов была способна активировать такие клетки в ответ на создаваемый водный дефицит даже в отсутствии экзогенно добавленного ИУК.

Таким образом, показано, что как в реакцию формирования морозостойкого состояния, так и в процесс индукции латеральных корней в условиях умеренного водного дефицита вовлечены регуляторы углеводной природы – олигосахарины. Поскольку исследуемые фракции олигосахаринов были получены без предварительного гидролиза полимеров клеточной стенки, то можно предположить, что такие фрагменты образуются эндогенно из полимеров клеточной стенки, находящихся в интенсивном обмене в ходе приспособления растений к изменившимся условиям и являются естественными посредниками адаптивных реакций.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ (грант 17-04-01539)

## Проявление непредвиденных эффектов у трансгенных растений осины и березы

*Лебедев В.Г., Шестибратов К.А.*

Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН. Пр-т  
Науки, 6, Пушкино, Россия  
[vglebedev@mail.ru](mailto:vglebedev@mail.ru)

Все трансгенные растения до своей коммерциализации проходят всестороннюю оценку на биобезопасность для потребителя и окружающей среды, в т.ч. и на проявление т.н. непредвиденных (непреднамеренных) эффектов (unintended effects). Данные эффекты не связаны со свойствами конкретной последовательности ДНК или кодируемым ее белком, а являются следствием места встраивания, соматональных изменений или плейотропного эффекта гена и в большинстве случаев могут быть обнаружены только по косвенным признакам.

В Филиале ИБХ РАН в растения осины и березы был перенесен ряд различных генов. В условиях открытой площадки, которые являются максимально приближенными к полевым испытаниям из реально возможных в настоящее время, были проведены многолетние эксперименты с трансгенными растениями осины (*Populus tremula*) и березы (*Betula pubescens*, *B. pendula*), несущими ген глутаминсинтетазы GS (2009-2012, 2014-2016) и ген устойчивости к гербициду bar (2014-2015). Для оценки непредвиденных эффектов на немишенные организмы в течении четырех лет измеряли активность одиннадцати почвенных ферментов, включенных в циклы C, N, P и S. Трансгенные растения осины и березы не оказали влияния на микрофлору почвы, но в этом и в других экспериментах был обнаружен ряд других непредвиденных эффектов: 1) изменение габитуса, 2) снижение зимостойкости, 3) раннее цветение, 4) задержка в распускании почек. У трех линий березы пушистой с геном GS растения демонстрировали карликовый фенотип с искривленными ветвями и ослабленным развитием корневой системы. Резкое понижение температуры в конце октября 2014 года, случающееся раз в 30 лет, позволило выявить ослабленную зимостойкость у одной линии осины с геном bar и одной линии березы с геном GS. У одной линии березы с геном GS дважды было отмечено образование соцветий в 3-летнем возрасте (в 2011 и 2016 годах). Изучение фенологических фаз в 2016 году выявило задержку в распускании почек у одной линии осины с геном GS по сравнению с контрольной и другими трансгенными линиями.

Для целенаправленного выявления непредвиденных эффектов у трансгенных растений на ранних стадиях необходимо использование «омикс-технологий» для скринирования трансформантов на возможные отклонения от исходных генотипов. Дальнейшие исследования в этом направлении, особенно у древесных видов, требуют проведения многолетних полевых испытаний в различных почвенно-климатических зонах.



## Воздействие препарата Эпин-экстра на морфофизиологические показатели растений сорго веничного в условиях холодого стресса

Луговская А.А., Болдырева Л.Л., Кучер Е.Н.\*

Академия биоресурсов и природопользования ФГАОУ «КФУ им. В.И. Вернадского», пгт. Аграрное, Крым, Россия

\*Таврическая академия ФГАОУ «КФУ им. В.И. Вернадского», Проспект Вернадского, 4, г. Симферополь, Россия  
[Lugovskaia.a@mail.ru](mailto:Lugovskaia.a@mail.ru)

Увеличение производства кормов и улучшение их качества остается одной из актуальных проблем в сельском хозяйстве. В связи с этим для каждой почвенно-климатической зоны подбирают наиболее урожайные кормовые культуры.

Одной из таких культур для Крымского региона является сорго. В настоящее время сорго веничное является одним из экономически выгодных и безопасных для окружающей среды материалов для изготовления изделий хозяйственного назначения. Высокая продуктивность, стабильность урожаев по годам, хорошие кормовые достоинства и универсальность использования – это его основные преимущества. Не смотря высокую устойчивость к влиянию неблагоприятных факторов среды, таких как воздушная и почвенная засуха, засоление почв, сорго страдает от воздействия низких положительных температур.

Часто повторяющиеся в период начала вегетации растений холода являются особенностью земледелия Крыма. В качестве современного способа поддержать и активизировать жизненные процессы в испытывающих стресс растениях используются стимуляторы роста и развития. Одним из таких адаптогенных препаратов является Эпин – экстра, действующим веществом в котором служит эпибрассинолид. Препарат практически не опасен живых организмов и не загрязняет окружающую среду.

Целью проведенного нами исследования было изучение особенностей воздействия Эпин-экстра на холодоустойчивость сорго веничного на ранних этапах онтогенеза. Применяли предпосевную обработку семян сорго веничного сорта Любимое – 80 (*Sorghum technicus* Moench. CV 'Любимое – 80') в течение 4 часов растворами препарата в концентрациях: 0,05; 0,038; 0,025; 0,0125; 0,009 и 0,006 мг/л. Семена проращивали в термостате типа ТС-80М-2 в темноте при температуре +25°C (ГОСТ 12038-84). Исследуемые растения выращивали на питательной среде Кнопа в вегетационных сосудах емкостью 0,5 л при естественном освещении и температуре +22-+24°C в течение 5 суток. На 6-е сутки они были помещены на 20 часов в холодильную камеру (t=+4°C). Затем возвращены в нормальные условия и выращивались еще в течение 8 суток в водной культуре.

В ходе исследований было установлено, что результатом действия низкой положительной температуры на растения в контроле 2 стало снижение величины параметров роста по сравнению с контрольными, выращенными при оптимальной температуре (контроль 1). Так, высота надземной части растений в неблагоприятных условиях меньше, чем в контроле 1 на 19,4%, длина корневой системы – на 26,3 %, площадь листовой поверхности – на 23,3%, масса сырого вещества – на 22,2%, а масса сухого вещества – на 25,0%.

Использование препарата Эпин-экстра привело к увеличению значений морфометрических показателей растений сорго веничного на ранних этапах онтогенеза в условиях температурного стресса (t=+4°C). Наиболее выраженный стимулирующий эффект при различных температурных режимах выращивания оказывает концентрация раствора регулятора роста, равная 0,025 мг/л. При предпосевной обработке семян регулятором роста в этой концентрации длина корневой системы растений в условиях холодого стресса превышала величину параметра в контроле 2 на 20%, высота побега – на 18,1%, площадь листовой поверхности – на 14,1%, масса сырого вещества – на 13,1 %, а масса сухого вещества – на 9,8 %.

Полученные результаты подтвердили перспективность использования препарата Эпин-экстра для предпосевной обработки семян с целью повышения стрессоустойчивости растений.

**Реакция травянистых и древесных инвазивных растений на абиотические стрессоры***Лукаткин А.С., Шаркаева Э.Ш., Лукаткин А.А.*

ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева», ул. Большевикская, 68, Саранск, Россия  
[aslukatkin@yandex.ru](mailto:aslukatkin@yandex.ru)

Начиная с середины XX века, во многих регионах наблюдаются существенные преобразования растительного покрова, связанные с проникновением чужеродных видов. В новых экосистемах эти виды зачастую угрожают безопасности устойчивого развития растительности. Растительные инвазии приняли глобальный характер и представляют серьезную экологическую проблему. В настоящее время чужеродные виды считаются второй по значимости угрозой биоразнообразию (после разрушения мест обитания). Особую тревогу вызывает внедрение инвазионных видов в природные сообщества, их успешная конкуренция с видами местной флоры. Одной из причин этого может быть высокая устойчивость инвазионных видов к действию абиотических и биотических стрессоров. Высокая инвазионная способность вызывает необходимость изучения особенностей физиологических и биохимических стрессовых реакций у древесных и травянистых видов.

В работе изучали реакцию молодых растений *Acer negundo* L., *Fraxinus pennsylvanica* Marsh. (древесные виды), *Coryza canadensis* L. и *Echinocystis lobata* (Michx.) Torr. et Gray (травянистые виды) на действие абиотических и антропогенных факторов. В листьях определяли изменения физиологических и биохимических индексов (перекисного окисления липидов, активности антиоксидантных ферментов, параметров флуоресценции хлорофилла), указывающих на устойчивость инвазивных видов к действию абиотических стрессоров (засухи, пониженных и повышенных температур) и техногенного загрязнения городской среды.

При моделировании абиотических стрессовых факторов накопление малонового диальдегида в клетках листьев инвазивных растений обычно возрастало. Однако у древесных видов в условиях засухи интенсивность ПОЛ не увеличивалась, как и у эхиноцистиса при неблагоприятных температурах. Это свидетельствует о невысокой интенсивности окислительного стресса в клетках инвазивных видов при помещении в неблагоприятные условия.

У клена американского активность каталазы при действии стрессоров снизилась, но у ясеня пенсильванского, мелколепестника канадского и эхиноцистиса лопастного возрастала. Активность аскорбат-пероксидазы в большинстве стрессовых вариантов снижалась у древесных растений и возрастала у травянистых видов.

В условиях интенсивного городского загрязнения интенсивность ПОЛ в листьях инвазивных растений возрастала по сравнению с пригородными лесными участками. При этих условиях активность каталазы и аскорбат-пероксидазы возрастала у древесных растений, но снижалась у травянистых видов.

Параметры флуоресценции хлорофилла в листьях инвазивных растений, подвергнутых абиотическим стрессам, указывают на снижение квантового выхода и коэффициента фотохимического тушения, и на повышение нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла у древесных видов. Этот эффект, который связан с ингибированием активности ФСII, указывает на увеличение восстановленности пула хинонов. Наоборот, у травянистого вида *C. canadensis* при действии высокой температуры наблюдали повышенную активность ФСII и подавленное нефотохимическое тушение. Это указывает на возрастание окисленности пула хинонов, что приводит к активации транспорта электронов между двумя фотосистемами.

Таким образом, высокая инвазивная способность древесных и травянистых видов-вселенцев обусловлена интенсивным противодействием окислительному стрессу при действии абиотических и антропогенных неблагоприятных факторов, что проявлялось в слабых изменениях активности ферментов антиоксидантной системы и параметров флуоресценции. Травянистые инвазивные виды проявили более высокую устойчивость к засухе по сравнению с *F. pennsylvanica*.

Сравнение биохимических и физиологических изменений у древесных инвазивных видов указывает на более высокую устойчивость антиоксидантной системы и фотосинтетического аппарата у клена ясенелистного, что свидетельствует о хорошей способности *A. negundo* к адаптации в неблагоприятных условиях.

Сравнение травянистых видов показало, что адаптивная способность этих инвазивных растений основана на различных биохимических и физиологических механизмах, функционирующих при действии неблагоприятных факторов: у *C. canadensis* – на высокой активности антиоксидантной системы, у *E. lobata* – низкой степенью активации прооксидантной системы.

Различия в реакции фотосинтетического аппарата разных видов на абиотические и антропогенные стрессорные воздействия могут лежать в основе неодинаковой адаптивной стратегии инвазивных видов к условиям вторичных местообитаний.

## Glycation of plant proteins in ageing and stress response: potential mechanisms and proposed biological role

*Lukasheva E.M.* \*, *Bilova T.E.* \*\*\*, *Paudel G.* \*\*\*\*\*, *Greifenhagen U.* \*\*\*, *Schilyaev N.G.* \*, *Brauch D.* \*\*\*, *Frolova N.V.* \*\*\*\*\*, *Soboleva A.V.* \*\*\*, *Didio A.V.* \*\*\*, *Grishina T.V.* \*, *Osmolovskaya N.G.* \*, *Balcke G.U.* \*\*, *Milkowski C.* \*\*\*\*\*, *Birkemeyer C.* \*\*\*, *Wessjohann L.A.* \*\* and *Frolov A.A.* \*\*\*

\*St. Petersburg State University. University emb., 7/9, Saint Petersburg, Russia;

[elena\\_lukasheva@mail.ru](mailto:elena_lukasheva@mail.ru)

\*\*Leibniz Institute of Plant Biochemistry. Weinberg, 3, Halle (Saale), Germany;

\*\*\*Universität Leipzig, Faculty of Chemistry and Mineralogy. Deutscher Platz, 5, Leipzig, Germany;

\*\*\*\*Martin Luther Universität Halle-Wittenberg, Interdisciplinary Center for Crop Plant Research (IZN). Hoher Weg, 8, Halle (Saale), Germany.

Glycation is a non-enzymatic post-translational modification formed in the reaction of protein amino acid residues with carbonyl compounds (carbohydrates and  $\alpha$ -dicarbonyls). Carbohydrates (aldoses and ketoses) interact with lysyl residues, resulting in formation of so-called Amadori and Heyns compounds, respectively. Their further rearrangement and degradation yield advanced glycation end-products (AGEs). Alternatively,  $\alpha$ -dicarbonyls (intermediates of monosaccharide autoxidation and lipid peroxidation) can be the precursors of the AGEs formed at lysyl and arginyl sites as well. Enhanced generation of AGEs accompanies pathology of some metabolic diseases (diabetes mellitus, Alzheimer disease) and thermal processing of foods. In mammals, these products demonstrate a clear pro-inflammatory effect. Recently, formation of AGEs was reported in plants as well. Indeed, high rates of oxidative processes at the background of essential tissue carbohydrate contents might result in enhanced glycation of plant proteins that might affect both plant physiology and nutritional value of crop plants. In this context, the patterns of plant protein glycation, their changes during ageing and under environmental stresses and pathways of AGE formation *in vivo* need to be characterized.

Therefore the models of drought, high light and cadmium stress were established with *Arabidopsis thaliana* and *Brassica napus* plants. The stress response was characterized by a pattern of physiological and biochemical markers, whereas the activity of plant anti-oxidant and anti-glycative systems were probed by enzymatic, immunochemical and expression analysis. The plant glycosylated proteome was characterized by the bottom-up LC-MS proteomic approach, whereas metabolomic analysis relied on GC-MS. To address the reactivities and glycation potential of plant metabolites, *in vitro* synthetic peptide-based glycation model was established as well. The patterns of resulted products were characterized by LC-QqTOF-MS and MS/MS, and considered in context of the *in vivo* data.

The both plant proteomes were found to be glycosylated. The patterns of glycation dominated with AGEs and showed higher abundance under environmental stress conditions. The corresponding AGE-modified sites were mostly represented with  $N^{\epsilon}$ -carboxymethyllysine (CML) and methylglyoxal-derived hydroimidazolone (MG-H). Thereby, 44 and 65 modified peptides (62 and 90 sites), were specific for drought and cadmium metal stress, respectively. The stress-specific AGE-modified proteins were involved in RNA processing, transcriptional regulation (metal stress) amino acid metabolism or were stress-related proteins (drought stress). In contrast, ageing (a 5 week-period in the end of vegetative phase) was accompanied rather not with formation of the *de novo* glycosylated proteins but with dramatic increase in glycation levels of 70 glycosylated proteins. Their up-glycosylated state was attributed to the enhanced abundance of AGE-modified molecules carrying modification at the same specific position. The highly susceptible to glycation sites we defined as "glycation hotspot". In their close proximity glutamyl and aspartyl residues were revealed by 3D homology modeling of corresponding glycosylated proteins. This indicates importance of structural consensus in enhanced glycation rates and defines the non-enzymatic protein glycation rather not as random but site-specific process. Four proteins (Phospholipid:diacylglycerol acyltransferase 1, E3 ubiquitin-protein ligase ORTHRUS 1, SPA1-related 4, Rhamnogalacturonate lyase) were found contained with high probability glycation hotspots in catalytic domains. The most of the stress-dependently up-regulated sugars were characterized with a high reactivity and glycation potential. Surprisingly, accumulation of carbohydrates was not accompanied with up-regulation of free  $\alpha$ -dicarbonyls. Most probably, these highly-reactive compounds readily interact with proteins and metabolites, directly upon their formation in course of monosaccharide autoxidation. This assumption is in agreement with a strong domination of arginine-derived AGEs originated from  $\alpha$ -dicarbonyls. Remarkably, the early glycation sites were not found to be AGE-modified, that might indicate a negligible impact of glycoxidation in AGE formation. Thus, monosaccharide autoxidation seems to be the main pathway for AGE formation. Accordingly, the key metabolites of the central metabolic pathways (predominantly Calvin cycle and glycolysis), like dihydroxyacetone phosphate, glyceraldehyde-3-phosphate, ribulose, erythrose, and sucrose, were the most probable intermediates of AGE formation in plants.

The work was supported by Russian Science Foundation (project No17-16-01042).

**Физиолого-биохимические показатели растений табака, выращенных *in vitro* из каллусов, подвергнутых многократной обработке низкоинтенсивным переменным магнитным полем**

*Лукьянова М.В., Макарова А.Е., Крюков Л.А., Половинкина Е.О.*

Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,  
Институт биологии и биомедицины, пр. Гагарина, 23/1, Нижний Новгород, Россия  
[polovinkinaeo@gmail.com](mailto:polovinkinaeo@gmail.com)

Действие низкоинтенсивных магнитных полей является частью общей фундаментальной проблемы биологической эффективности слабых и сверхслабых физико-химических факторов различной природы. Действие таких факторов, как предполагается, лежит ниже порога включения защитных биологических механизмов и поэтому способно накапливаться на субклеточном уровне. Данная проблема имеет прикладной аспект, в частности, для решения задач модуляции активности физиолого-биохимических процессов растительной клетки в целях повышения продуктивности.

Целью работы являлось исследование морфометрических и биохимических показатели растений табака полученных микроклональным путем из каллусов, подвергнутых многократному воздействию низкоинтенсивного переменного магнитного поля (МП).

В ходе эксперимента листовые экспланты помещались на гормональную среду Марасига-Скуга и культивировались на ней до каллусообразования в течение 4 недель. Образовавшиеся каллусы пересаживали на безгормональную питательную среду и подвергали экспозиции в МП курсами по 15 или 30 минут ежедневно в течение 5 дней. Магнитное поле создавалось магнитотерапевтической установкой VL-2 (генератор фирмы Electro Biology Inc. создавал пачки из 20 импульсов длительностью 227 мкс с амплитудой 1,5 мТл, следующих с частотой 15 Гц). После курса экспозиций в МП каллусы пересаживали на новую питательную среду, где происходил органогенез, и выращивали растения до накопления необходимой для биохимического эксперимента биомассы (до 18й недели роста). Контролем являлись не подвергавшиеся воздействию МП растения.

Работу фотосинтетического аппарата оценивали методом РАМ-флуориметрии. В работе определяли квантовые выходы фотосистем. Курс экспозиций в МП достоверно увеличивал квантовые выходы обеих фотосистем на 18-й неделе роста, что говорит о более эффективном использовании световой энергии растениями в процессе фотосинтеза. Положительная корреляция квантового выхода фотосистемы 2 с общей продуктивностью фотосинтеза может являться основанием для большей продуктивности растений. Данное исследование установило, что экспозиция в МП курсами по 15 и 30 минут ускоряло развитие растений и увеличивало прирост биомассы. На 8-10-й неделях растительные экспланты набирали активный рост, увеличивалось количество побегов. На 10-й неделе побеги, подвергавшиеся воздействию МП начинали укореняться. С 14-й по 17-ю неделю происходило удлинение корней, а так же нарастание биомассы растений. Контрольные образцы значительно отставали в росте, их укоренение произошло только на 13-й неделе. На 18-й неделе культивирования растения, развившиеся из каллусов после воздействия МП недельным курсом по 15 и 30 мин имели прирост биомассы соответственно на 17% и на 23% больший, чем контрольные растения.

Важную роль в формировании продуктивности играют фотосинтетические пигменты. По содержанию хлорофиллов и каротиноидов в растениях можно судить о работе фотосинтетического аппарата и адаптивности растений к изменениям окружающей среды. В листьях табака, выращенных их каллусов, подвергавшихся многократной обработке МП в течение 15 минут наблюдалось повышенное содержания хлорофилла b на 10%, а 30-ти минутные экспозиции приводили к дальнейшему увеличению в развившихся листьях концентрации хлорофилла a и каротиноидов на 13% и 14% соответственно, при этом соотношение пигментов достоверно не изменялось ни в одном из вариантов.

Другим показателем состояния растения является соотношение прооксидантно-антиоксидантных процессов. Перекисное окисление липидов в клетке поддерживается на постоянном уровне благодаря многоуровневой антиоксидантной системе защиты. Сбалансированность между обеими частями этой системы — перекисным окислением, с одной стороны, и антиоксидантной активностью, с другой, является необходимым условием для поддержания нормальной жизнедеятельности клетки. При смещении прооксидантно-антиоксидантного равновесия в сторону интенсификации окислительных процессов, может происходить накопление продуктов перекисного окисления липидов мембран, что приводит к функциональным нарушениям в мембранах клеток.

В клетках листьев растений, развившихся из каллусов, подвергшихся курсу 30-минутных воздействий МП, содержание первичных и конечных продуктов перекисного окисления липидов -диеновых конъюгатов и оснований Шиффа - было выше контроля соответственно на 13% и 10%, на фоне повышения активности антиоксидантного фермента каталазы на 25%. После 15-минутной обработки активность каталазы возрастала на 25%, что, по-видимому, сдерживало развитие окислительных процессов и накопления продуктов перекисного окисления липидов в листьях не происходило.

Таким образом, проанализировав полученные результаты, можно заключить, что активацию развития растений из каллусов, подвергнутых ежедневному воздействию МП в течение 15 минут, можно связать с повышением эффективности работы фотосинтетического аппарата, в то время как 30-ти минутные экспозиции носили стрессующий характер.

## Сравнительное изучение адаптации растений пшеницы и кукурузы к почвенной засухе и последующей регидратации

Маевская С.Н., Николаева М.К.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН. Ботаническая ул., 35, Москва, Россия.  
[snmaevskaya@mail.ru](mailto:snmaevskaya@mail.ru)

Засуха, наблюдающаяся практически во всех климатических зонах, является одним из основных факторов внешней среды, лимитирующих рост, фотосинтез и продуктивность растений. В настоящее время глобальные изменения климата приводят к сокращению пригодных для земледелия площадей и расширению засушливых зон. В связи с этим исследование молекулярных механизмов адаптации и устойчивости растений к засухе остается актуальной задачей физиологии растений. Для оценки способности растений переносить засуху важно изучить как пути адаптации к водному дефициту, так и механизмы, регулирующие перестройку метаболизма при регидратации. С этой целью проводилось сравнительное изучение ответа на регидратацию подвергнутых засухе растений пшеницы и кукурузы, C<sub>3</sub>- и C<sub>4</sub>-растений, соответственно. Определяли содержание растворимых сахаров (редуцирующих сахаров и сахарозы), пролина, пигментов и МДА в листьях проростков пшеницы и кукурузы под влиянием засухи (6 суток) и через 24 и 48 ч после возобновления полива.

Условия выращивания. Опыты проводили с проростками озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорт Бельцкая и кукурузы (*Zea mays* L.) сорт Тройная сладость, выращенными на смеси песка и дерново-подзолистой почвы (2 : 1) при интенсивности ФАР 200 мкмоль/(м<sup>2</sup> с), 16-часовом фотопериоде и температуре 25/20°C (день/ночь). Контрольные растения выращивали при влажности, составлявшей 60% от полной влагоемкости почвы (ПВП). Растения опытного варианта прекращали поливать через 8 дней после появления всходов. После 6 суток засухи влажность почвы снизилась до 26.3% от ПВП, затем полив опытных растений был возобновлен.

Результаты. Под влиянием засухи (6 суток) содержание воды в листьях опытных растений пшеницы снизилось на 4% от сырого веса. Через 48 ч после возобновления полива содержание воды повысилось до уровня контроля. В листьях опытных растений кукурузы содержание воды после 6 суток засухи не отличалось от контроля. Содержание растворимых сахаров и сахарозы в листьях опытных растений пшеницы увеличилось по сравнению с контролем, соответственно, на 140 и 71%, тогда как в листьях кукурузы содержание растворимых сахаров возросло в меньшей степени (22%), а содержание сахарозы не изменилось. У кукурузы после возобновления полива содержание растворимых сахаров постепенно снижалось, однако через 48 ч оставалось выше, чем в контроле. У пшеницы через 24 ч после начала полива содержание сахарозы в опыте было выше, чем в контроле. Однако через 48 ч содержание сахарозы у опытных растений значительно снизилось, что могло быть связано с использованием сахарозы в процессе репарации. Изученные сорта пшеницы и кукурузы различались по накоплению пролина. В листьях опытных растений пшеницы содержание пролина повысилось в 49 раз, в листьях кукурузы – в 2.5 раза. Под влиянием полива содержание пролина значительно снизилось у обеих культур, однако, через 48 ч в листьях опытных растений пшеницы уровень пролина превышал уровень контроля в 3.4 раза. В листьях опытных растений кукурузы содержание пролина не отличалось от контроля. В результате засухи содержание МДА, показателя перекисного окисления липидов, повысилось у пшеницы на 26% и у кукурузы на 14%. Содержание хлорофилла в листьях опытных растений пшеницы увеличивалось по сравнению с контролем на 40%. Через 24 ч после регидратации содержание пигментов снизилось до уровня контроля. В листьях кукурузы содержание хлорофиллов под влиянием засухи не изменилось.

Таким образом, под влиянием засухи (6 суток) в листьях пшеницы и кукурузы накапливались растворимые сахара. При этом у пшеницы накопление растворимых сахаров происходило более интенсивно, чем у кукурузы. После 6 суток засухи одновременно с изменением содержания углеводов в листьях опытных растений существенно изменилось содержание пролина, который по-разному накапливался в листьях кукурузы и пшеницы. Накопление растворимых сахаров и пролина, является одним из характерных физиологических ответов на водный стресс и важной адаптивной реакцией, повышающей устойчивость к засухе. Известно, что осмолиты участвуют в защите клеток от окислительного стресса, возникающего в условиях водного дефицита. После регидратации удаление избытка пролина имело большое значение для эффективного выхода из стресса.

Выводы. Проведено сравнительное изучение ответа на регидратацию подвергнутых засухе растений пшеницы и кукурузы. Под влиянием засухи у пшеницы (сорт Бельцкая) содержание растворимых сахаров и пролина увеличилось значительно сильнее, чем у кукурузы (сорт Тройная сладость). При возобновлении полива (24 и 48 ч) у обеих культур содержание растворимых углеводов и пролина быстро снизилось, что свидетельствует об их интенсивном использовании при восстановлении от стресса. Полученные данные позволяют заключить, что механизмы адаптации изученных сортов пшеницы и кукурузы к засухе, как и механизмы восстановления метаболизма после регидратации, были различны. Одной из причин большей устойчивости данного сорта кукурузы по сравнению с пшеницей могло быть более высокое содержание растворимых сахаров и пролина в листьях контрольных растений кукурузы. Растения изученных сортов пшеницы и кукурузы сохранили способность к репарации при восстановлении от стресса.

## Жизнеспособность семян *Орхидных* после криообработки при различных температурных условиях

Макарова А.Е., Крюков Л.А., Половинкина Е.О.

Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,  
Институт биологии и биомедицины, пр. Гагарина, 23/1, Нижний Новгород, Россия  
[polovinkinaeo@gmail.com](mailto:polovinkinaeo@gmail.com)

Orchidaceae - семейство находящееся с эволюционной точки зрения на самом высоком уровне организации, и отличающееся сложной биологией размножения при длительном цикле развития. Поэтому массовое размножение орхидных традиционным способом мало эффективно. Ещё одной сложностью сохранения орхидей является недолговечность их семян. Контролируемое проращивание семян возможно на питательных средах *in vitro*. Однако поддержание коллекции растений *in vitro* требует значительных затрат. Проблема надежного и длительного сохранения ценного генофонда растений решается в настоящее время путем хранения семян, клеток и микроорганов в жидком азоте (-196°C). Целью данного исследования являлось определение оптимального температурного режима хранения семян тропических видов *Eulophia streptopetala* и *Stanhopea tigrina* в интервале температур фреоновых холодильных установок. Растения были выращены в оранжерее Ботанического сада ННГУ им. Н.И. Лобачевского, семена собраны в 2016 году. Семена замораживали при температурах -18°C, -40°C или -80°C на сроки 1, 3, 6 или 12 месяцев. Контролем являлись семена, хранившиеся при +4°C. Перед замораживанием проводили определение морфометрических показателей семян и наличия жизнеспособных зародышей методом микроскопирования. Зародыши содержали 74% семян *Eulophia streptopetala* и 92% семян *Stanhopea tigrina*, их линейные размеры соответствовали зрелым семенам.

После разморозки определяли жизнеспособность семян тетракольным методом и проводили культивирование на среде Fast. В ходе наблюдения фиксировали смену стадий жизненного цикла.

После размораживания семян через 1, 3, 6 и 12 месяцев, установили, что семена *Eulophia streptopetala* утрачивали жизнеспособность при заморозке быстрее, чем контрольная группа. К 12-му месяцу хранения при +4°C жизнеспособность семян упала с 74% до 43%, при -80°C – до 40%, при -40°C – до 28%, а самая низкая оказалась после замораживания при -18°C – всего 17%. Таким образом, более низкие температуры меньше снижали жизнеспособность.

Семена вида *Stanhopea tigrina* после замораживания практически не изменяли жизнеспособность при хранении при температурах -40°C и -80°C, и теряли до 10% и 15% жизнеспособности при хранении при +4°C и -18°C соответственно. Таким образом, после замораживания семена *Stanhopea tigrina* были более жизнеспособны, чем контроль. Такие разные результаты сохранения семян двух видов может объясняться разным строением семян: в отличие от *Eulophia streptopetala*, семена *Stanhopea tigrina* имеют более толстую оболочку, состоящую в среднем из 6 слоев клеток.

При культивировании *Eulophia streptopetala* после размороженных семян вне зависимости от условий и сроков хранения семена набухали примерно одновременно на 6-7 неделе, протокорм прорастал на 10-11 неделе, что не отличается от сроков прохождения стадий жизненного цикла не хранившихся семян.

Семена *Stanhopea tigrina* также набухали и переходили на стадию протокорма на 6-7 и 10-11 неделях соответственно, но выход на ювенильную стадию задерживалась на 1-2 недели у протокормов, полученных из семян, подвергавшихся заморозке.

Таким образом, оптимальный температурный режим хранения семян различается для исследованных видов. Диапазон исследованных температур не подходит для длительного хранения семян *Eulophia streptopetala*. Семена *Stanhopea tigrina* могут храниться потери жизнеспособности и практически без потери качества при -40°C при -80°C в течение 12 месяцев.

## Физиолого-биохимические особенности прибрежно-водных растений при длительном антропогенном воздействии (на примере Карабашского медеплавильного комбината, Южный Урал)

Малева М.Г., Борисова Г.Г., Чукина Н.В., Степанова В.В., Кумар А., Трипти

Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина. Ул. Мира, 19, Екатеринбург, Россия.

[maria.maleva@mail.ru](mailto:maria.maleva@mail.ru)

В настоящее время в результате более чем столетней деятельности Карабашского медеплавильного комбината (КМК, г. Карабаш, Челябинская область) на прилегающих территориях наблюдается серьезная деградация природных ландшафтов. Сточные воды КМК, содержащие большое количество тяжелых металлов (ТМ), поступают в гидросистемы. Немалый вклад в их загрязнение вносят также аэральные выбросы комбината, токсичные вещества которых попадают в почву, вызывая значительное подкисление почвенного раствора и увеличение подвижности ионов ТМ. Это приводит к ухудшению экологического состояния водных экосистем и отражается на функционировании гидробионтов, в том числе и водных макрофитов.

Объекты исследования – многолетние прибрежно-водные растения (гелофиты): *Typha latifolia* L. (рогоз широколистный) и *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud. (тростник обыкновенный). Растения отбирали из водных объектов (фон и импакт), расположенных на разном расстоянии от КМК. В качестве фонового участка использовали оз. Иртяш (60 км от КМК); в качестве импактного – отстойник сточных вод (вблизи КМК).

Концентрация ТМ в воде и седиментах импактного водоема была во много раз (от 100 до 500 и более) выше, чем в фоновом, что приводило к значительному их накоплению в надземных и подземных органах растений изученных видов. Например, содержание меди в листьях рогоза и тростника в импактном местообитании увеличивалось в среднем в 6 раз, кадмия – в 4 раза, кобальта – в 14 раз. В корнях содержание меди в импактном участке возрастало в среднем в 20 раз, кобальта – в 2.6 раза. Отмечена видоспецифичность в отношении кадмия: в придаточных корнях рогоза его накопление отличалось более чем на порядок по сравнению с тростником и превышало значение фонового участка в 144 раза.

Для всех изученных ТМ их аккумуляция в корнях растений была существенно выше, чем в листьях (как в фоновом, так и импактном местообитаниях). Например, содержание кадмия в корнях рогоза из импактного участка в 84 раза превышало его количество в листьях. По отношению к большинству изученных ТМ более высокая аккумулятивная способность была характерна для *T. latifolia* по сравнению с *P. australis*.

Исследования показали, что ответные реакции гелофитов двух видов на длительное техногенное воздействие в основном были сходными. Количество продуктов перекисного окисления липидов в листьях растений из импактной зоны было выше по сравнению с фоном (в среднем в 1.7 раза), что свидетельствует о преобладании проокислительных процессов при долговременном стрессовом воздействии.

Важную роль в этих условиях играет антиоксидантная система, компоненты которой поддерживают устойчивость растений и помогают им противостоять действию неблагоприятных факторов среды, сохраняя свою жизнеспособность. Для оценки адаптивных реакций изученных гелофитов был проведен сравнительный анализ таких показателей как содержание небелковых и белковых растворимых тиолов, общего растворимого белка, фенольных соединений (общее количество и содержание флавоноидов) и пролина. Выявлены характерные для обоих видов тенденции – в условиях длительной техногенной нагрузки (в импактной зоне) у растений достоверно повышалось количество SH-групп в небелковой фракции (в среднем на 16 %) и в растворимых белках (в среднем в 2 раза). Количество растворимого белка у гелофитов импактного участка было в 1.5 раза выше, чем фонового. Содержание пролина в листьях растений из загрязненного местообитания увеличивалось, а содержание флавоноидов, напротив, снижалось (на 11 % у рогоза и в 3.5 раза у тростника).

Обнаружены также видоспецифичные реакции – общее содержание фенольных соединений в листьях рогоза из импактной зоны было выше, чем у растений из фонового участка, в то время как для тростника была характерна противоположная тенденция. Изученные виды различались содержанием некоторых низкомолекулярных антиоксидантов: количество флавоноидов в листьях рогоза было в 6 раз, а пролина – в 2 раза выше, чем у тростника.

Таким образом, в ходе исследования выявлены адаптивные изменения в содержании низкомолекулярных антиоксидантов и других физиолого-биохимических параметров, способствующие поддержанию антиоксидантной активности у изученных гелофитов, обеспечивающих их существование в условиях длительного антропогенного воздействия.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 15-04-08380 А) и программы 211 Правительства Российской Федерации, соглашение № 02.А03.21.0006.

## Оценка структурно-функциональных характеристик фотосинтетического аппарата некоторых прибрежно-водных растений в условиях долговременной техногенной нагрузки

Малева М.Г., Борисова Г.Г., Чукина Н.В., Степанова В.В., Сливка Е.В., Васильев И.А.

Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина. Ул. Мира, 19, Екатеринбург, Россия

[maria.maleva@mail.ru](mailto:maria.maleva@mail.ru)

Территория, примыкающая к Карабашскому медеплавильному комбинату (КМК, г. Карабаш Челябинской области), объявлена зоной экологического бедствия. Медеплавильное производство является источником кислотного загрязнения, пылевых выбросов, сбросов сточных вод, содержащих большое количество тяжелых металлов (ТМ). Поступление ТМ в поверхностные воды ближайших водных объектов приводит к значительному повышению токсической нагрузки на фитобионтное звено гидроэкосистем.

Как известно, основополагающей функцией растений, обеспечивающей их необходимыми для роста и развития энергией и субстратами, является фотосинтез. Структурно-функциональные особенности фотосинтетического аппарата листа – это результат длительной адаптации видов растений к различным факторам среды. В условиях техногенного стресса у растений происходят изменения мезоструктуры листа, которые обеспечивают им оптимальное функционирование даже в неблагоприятных условиях.

Цель исследования – изучение структурно-функциональных характеристик фотосинтетического аппарата некоторых прибрежно-водных растений, выживающих в условиях долговременной техногенной нагрузки. Объектами исследования были широко распространенные гелофиты: *Typha latifolia* L. (рогоз широколистный) и *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud. (тростник обыкновенный). Проведено сравнительное изучение мезоструктуры листа и пигментного комплекса растений из водных объектов с импактной (отстойник вблизи КМК) и фоновой (оз. Иртяш, около 60 км от КМК) территорий.

Гидрохимический анализ исследуемых водных объектов показал увеличение электропроводности воды в импактном участке в 17 раз, а содержания аммонийного азота – в 12 раз по сравнению с фоновым. При этом рН воды импактного участка составляла лишь 3.5, в то время как фоновой – около 7.0. Концентрации ТМ в поверхностных водах импактной зоны во много раз превышали соответствующие значения фоновой. Так, например, в пробах воды вблизи комбината содержание меди в 120 раз превышало фоновые концентрации; цинка – в 200 раз, кадмия – в 400 раз, кобальта – в 500 раз и более. В донных отложениях также существенно были превышены концентрации ТМ. Все это свидетельствует о высокой токсической нагрузке на водные экосистемы импактной зоны. Таким образом, водные растения, обитающие вблизи КМК, подвергаются воздействию как сосредоточенных сбросов, так и аэральных выбросов.

В ходе исследования изучены параметры мезоструктуры листа (толщина листа, мезофилла и эпидермиса, число клеток и хлоропластов на единицу площади листа, объем и площадь поверхности клеток мезофилла и хлоропластов) и содержание в листьях фотосинтетических пигментов.

Результаты исследования показали, что в условиях повышенной техногенной нагрузки у изученных видов гелофитов наблюдались изменения в структуре фотосинтетического аппарата. Выявлены общие для обоих видов тенденции – у растений из импактного местообитания уменьшались толщина листа и объем хлоропластов. При этом число клеток и хлоропластов на единицу площади листа либо не изменялось (тростник), либо достоверно снижалось (рогоз). Присутствие в среде ТМ в высоких концентрациях приводило к разнонаправленным изменениям размеров клеток мезофилла: объем клеток палисадной ткани в листьях рогоза увеличивался, при этом размеры клеток губчатой существенно уменьшались. У тростника была выявлена обратная тенденция в изменении объема клеток.

Анализ содержания фотосинтетических пигментов в листьях растений из фоновой и импактной участков показал существенное (в среднем в 2 раза) увеличение концентрации хлорофиллов (*a* и *b*) и каротиноидов в последнем. Отношение суммы хлорофиллов к каротиноидам при этом оставалось стабильным, в то время как у растений из импактного участка соотношение хлорофиллов увеличивалось за счет более активного синтеза хлорофилла *a*. Вероятно, увеличение содержания хлорофилла у растений из импактного местообитания связано с повышенным содержанием в поверхностных водах аммонийного азота и ТМ, участвующих в его синтезе.

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о структурно-функциональных изменениях фотосинтетического аппарата изученных гелофитов, позволяющих им произрастать в условиях критической техногенной нагрузки.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 15-04-08380 А) и программы 211 Правительства Российской Федерации, соглашение № 02.А03.21.0006.



**Влияние мелатонина на рост и развитие побегов и корней у двух форм *Betula pendula*****Мамаев А.В. \*, Шибалева Т.Г. \*\*, Галибина Н.А. \*\*\*, Никерова К.М. \*\*\***

\*ФГБОУ Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия,

\*\*Институт биологии Карельского научного центра РАН, Пушкинская ул., 11, Петрозаводск, Россия,

\*\*\*Институт леса Карельского научного центра РАН, Пушкинская ул., 11, Петрозаводск, Россия

[shibaeva@krc.karelia.ru](mailto:shibaeva@krc.karelia.ru)

Мелатонин – гормон, обнаруженный практически у всех организмов, включая высшие растения. Различные функции этого гормона у растений исследованы в разной степени, но во всех случаях имеющиеся данные весьма немногочисленны.

Целью настоящей работы было изучение влияния экзогенного мелатонина на рост, развитие и ризогенез проростков двух форм березы – березы повислой (*Betula pendula* Roth var. *pendula*) и березы карельской (*B. pendula* Roth var. *carelica* (Mercl.) Hämet-Ahti). Их семена замачивали на двое суток в растворах мелатонина (0, 6 и 30 мкМ), в дальнейшем растения выращивали на питательном растворе Ингстада в камере искусственного климата при температуре 25/20°C (день/ночь), фотопериоде 16 ч, влажности воздуха 70%. Мелатонин (N-ацетил-5-метокситриптамин) использовали в виде химически чистого препарата (Sigma-Aldrich).

Определяли лабораторную всхожесть и энергию прорастания семян. У 5-недельных проростков измеряли высоту проростков, длину и количество листьев (>1 мм), длину главного корня, количество боковых корней.

Результаты работы показали значительные различия в реакции двух форм березы на воздействие мелатонина. У растений карельской березы, семена которых были обработаны растворами мелатонина в концентрациях 6 и 30 мкМ, отмечены более высокие относительно контроля всхожесть (на 13 и 41%, соответственно), энергия прорастания (на 29 и 63%), высота (на 58 и 132%), длина листьев (на 13 и 65%), количество листьев (на 27 и 94%), длина главного корня (на 51 и 129%) и количество боковых корней (на 12 и 90%). В литературе имеются данные, полученные на арабидопсисе, что мелатонин не влияет на длину главного корня или вообще ингибирует его рост. Наши результаты свидетельствуют о том, что это, как минимум, видоспецифично, так как нами зафиксировано увеличение длины главного корня более, чем в 2 раза при обработке семян 30 мкМ раствором мелатонина.

Результаты, полученные на растениях обычной формы березы повислой, значительно отличаются. Мелатонин в концентрации 6 мкМ не оказал влияния на изучаемые показатели, за исключением длины главного корня, которая увеличивалась на 11%. Влияние обработки семян мелатонином в концентрации 30 мкМ почти по всем показателям оказалось менее эффективным у растений обычной формы березы повислой по сравнению с карельской березой. В частности, всхожесть семян увеличилась в этом случае на 48%, энергия прорастания – на 15%, высота – на 20%, длина листьев – на 11%, количество листьев – на 55%, длина главного корня – на 48%. Увеличения количества боковых корней при этом не происходило.

Отметим, что наши предыдущие исследования на 5-недельных сеянцах разных форм березы повислой, выращенных в одинаковых условиях без обработки мелатонином, показали, что у сеянцев карельской березы наблюдается значительно большее количество боковых корней по сравнению с сеянцами обычной формы березы повислой, у которых длина главного корня была больше. Учитывая эти данные, особо обращает на себя внимание стимулирующее действие мелатонина на образование боковых корней и рост главного корня у карельской березы и отсутствие стимуляции роста боковых корней и менее выраженное влияние на рост главного корня у обычной формы березы повислой.

Таким образом, полученные данные позволяют заключить, что мелатонин оказывает стимулирующее действие на всхожесть семян, энергию прорастания, рост побегов и корнеобразование у двух форм березы повислой. Однако, их реакция на экзогенный мелатонин по ряду показателей различается не только количественно, но и качественно.

## Research of structural and morphological features of callus tissue of five-flavour berry (*Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill.), passivated on various types of growth media

Maramokhin E.V., Malakhova K.V., Zontikov D.N.

Kostroma State University, City of Kostroma, Russia 156005, 17 Dzierżyński st., Kostroma, Central Federal District, Russia  
[maramokhin91@mail.ru](mailto:maramokhin91@mail.ru)

Some structural and morphological features of five-flavour berry (*Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill.) callus tissue have been researched; and also, dependence of the plants's callus biomass on composition of growth media and growth regulators has been investigated.

Keywords: five-flavour berry, *in vitro* culture, callus tissue, biomass, schisandrin.

Attention in practical biotechnology is paid to research of callus tissues concerning the prospect of using them for obtaining biologically active substances in future [5]. Vascular plants' biocytocultures may serve as a renewable source of valuable secondary metabolites [2]. Various *Schizandraceae* plant species have been now managed to have their calli grown just slowly, which makes it a challenge to use it commercially [4]. *Schisandra chinensis* donor explants' stem metamer, laminae and internode were used. Plant material of donor explants was immersed into 70% ethyl alcohol with 30-second exposition for sterilisation. It was afterwards placed into a flask already containing some sodium hypochlorite with the concentration 3% and kept in such conditions for 15 minutes to be washed clean with sterile distilled water shortly after. Further, the plant material was pricked off onto growth media: Quorin M, Lepoivre P (QL) and Murashige & Skoog (MS) [3]. Both media contained meso-inositol with 100 mg/L of strength, glycine; with 2 mg/L of strength; thiamine, 0.5 mg/L, pyridoxine, 0.5 mg/L; saccharose, 20 mg/L; agar, 5.0 mg/L. 6-benzylaminopurine (6-BAP) with 1.0 mg/L of concentration and IBA with 0.1 mg/L of concentration were used as growth stimulators in the QL medium [1]. As well as 6-BAP 2.0 mg/L and 2,4-D 1.0 mg/L, in the MS medium both. *S. chinensis* has been managed to have three types of callus tissues from various parts of the plant, distinguished by colour, friability and morphogenesis degree, as well as by gemma buds occurrence. Callus tissue from *S. chinensis* internode has shown its best perspective for being cultivated to obtain plant biomass which some biologically active substances, schisandrin to be precise, might be potentially obtained with. The crude biomass greatest yield was obtained with the help of the MS 6-BAP 2 mg/L and 2,4-D 1 mg/L growth medium, and it amounted 12.93 g on average, dry weight came to 1.0 g. A harder callus was obtained with the help of the medium QL with 6-BAP 1.0 mg/L and IBA 0.1 mg/L, and crude weight came to 11.53 g on average; however, crude biomass yield was great, coming to 1.01 g. Thus, an internode appeared to be the most promising for commercial obtaining callus tissue biomass in bioactive substance biotechnology. The greatest internode callus dry biomass yield has been obtained with the help of the growth medium QL with 6-BAP 1.0 mg/L and IBA 0.1 mg/L.

### References

1. Akhmetova A. Sh. Five-flavour berry (*Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill.) *in vitro* propagation / A. Sh. Akhmetova // Russian Journal of Agrochemistry. Moscow: – 2014. – #11 – PP. 52 to 57.
2. Maramokhin E. V. Five-flavour berry (*Schisandra chinensis* (TURCZ.) BAILL.) and eleuthero (*Eleutherococcus senticosus* (RUPR. & MAXIM.) MAXIM.) clonal micro-propagation / E. V. Maramokhin, D. N. Zontikov // International scientific and practical conference «Biological features of medicinal and aromatic plants and their role in pharmaceutical practice» June 23 to 25, 2016. VILARNII City of Moscow – 2016. – PP. 261 to 265.
3. Murashige T.A., Skoog F. Revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plant.* 1962. V. 15. P. 473–497.
4. Nosov A. M., Popova E. V., Kochkin D. V. Isoprenoid production via plant cell cultures: Biosynthesis, accumulation and scaling-up to bioreactors // *Production of Biomass and Bioactive Compounds Using Bioreactor Technology.* 2014. P. 563-623.
5. Zontikov D., Zontikova S., Sergeev R., Shurgin A. *IN VITRO* PROPAGATION OF *RUBUS CHAMAEMORUS* L. AND *RUBUS ARCTICUS* L В сборнике: International Multidisciplinary Scientific GeoConference Surveying Geology and Mining Ecology Management, SGEM. 14. 2014. С. 397-403.

## Using tissue culture method for research of model association of basidiomycota and phototrophic organisms in terms of *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm

*Maramokhin E.V., Malakhova K.V., Zontikov D.N., Zontikova S.A.*

Kostroma State University, City of Kostroma, Russia 156005, 17 Dzierżyński st., Kostroma, Russia  
[maramokhin91@mail.ru](mailto:maramokhin91@mail.ru)

Usage of the method of *Lobaria pulmonaria* L. thallus *in vitro* cultivation has been presented in the paper. Pieces of thallus after sterilization were immersed into growth media for cultivating either phyco- or mycobiont. Both fungal and algal constituents' pure growth was obtained; with consolidating the phyco- and mycobiont on the special biphasic medium happening soon after.

Keywords: *Lobaria pulmonaria*, thallus, phycobiont, mycobiont.

Lichens, or lichenised fungi, are in fact composite organisms, consisting of a few living constituents but mainly of the two – a heterotrophic fungal part (mycobiont) and a photosynthesis-capable alga (phycobiont) [1, 2, 3]. When researching myco- and phycobionts, one may disclose evolutionary aspects of symbiotic organisms' biology, or at least find itself some new raw material for obtaining bioactive substances or these substances proper.

What is of great interest, are the fungal-and-algal symbiotic association mechanisms, possibility of either coexistence or separate existence of species, environmental impact on the association's species composition [4].

At the same time, using and research of lichenised fungi is certainly quite a challenge, due to: the organisms' extremely low growth rate; lack of experience of laboratory cultivation of those; and also membership of promising species in the list of the endangered ones and the ones subject to protection. Needless to say that lichens and their metabolites are hence of restricted application in national economy and commerce. However, many challenges might be approachable when using tissue culture technique [5, 6].

Which goals we aspired to achieve, was designing investigation of bringing *L. pulmonaria* myco- and phycobiont under *in vitro* cultivation under the conditions of their coexistence.

*Lobaria pulmonaria* apothecia, soredia as well as thallus parts were used by us in our work. Material for bringing under cultivation was sampled from late June to early July. We gave preference to younger parts of thalli which were vividly coloured. At first, the isolated parts of thalli were washed clean with potassium permanganate aqueous solution and sterile water. We used alcohol with strength of 70% during 3 minutes and sodium hypochlorite 5% aqueous solution during 15 to 20 minutes for sterilisation of plant material under conditions of a laminar box, with washing the former clean with sterile water soon after. Thalli parts, apothecia and soredia were placed on growth media – Czapek growth medium used for mycobiont; BG -11, for phycobiont; and the MS medium, for cultivation under the conditions of coexistence.

The mycobiont appeared to be observed growing in 60 days; the phycobiont, in 80 days after bringing into *in vitro* cultivation. Hyphae and arbuscules rejuvenescence, when cultivating the constituents under the conditions of coexistence, appeared to be visible in 30 days since the cultivation start.

### References

1. Ahmadjian V., 1973b. Resynthesis of lichens, pp. 565 - 579. In V.Ahmadjian & M. E. Hale eds., The Lichens. New York and London.
2. Ahmadjian V., Paracer, 1986. Symbiosis in introduction in biological association. Clark University Press.
3. Ahmadjian V., 1990 What have synthetic lichens told us about real lichens//Bibl. Lichenol. 38: 3 - 12.
4. Moberg, R. Lavar. En fälthandbok / R. Moberg, I. Holmåsén. – Stockholm, Interpublishing, 1982.– 240 s.
5. Hawksworth, D.L. Interacciones Hongo-Alga en Simbiosis Uquénicas y LiQuenoides / D.L. Hawksworth // An. Jard. bot. Madrid. – 1989. – Vol. 46, N 1. – P. 235 – 247.
6. Zontikov D., Zontikova S., Sergeev R., Shurgin A. *IN VITRO* PROPAGATION OF RUBUS CHAMAEMORUS L. AND RUBUS ARCTICUS L В сборнике: International Multidisciplinary Scientific GeoConference Surveying Geology and Mining Ecology Management, SGEM. 14. 2014. С. 397-403.

## Оценка активности фотосинтетического аппарата некоторых видов высших сосудистых растений Западного Шпицбергена

Марковская Е.Ф. \*, Шмакова Н.Ю. \*\*, Новичонок Е.В. \*\*\*

\*Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия; [volev10@mail.ru](mailto:volev10@mail.ru)

\*\*ФГБУН Полярно-альпийский ботанический сад-институт им. Н.А. Аврорина Кольского научного центра РАН, Кировск, Мурманской обл., Россия

\*\*\*ФГБУН Институт леса Карельского научного центра РАН, Петрозаводск, Россия

Работа выполнена на 20 видах высших сосудистых растений арктических тундр, которые произрастали в пределах плакорной территории в нижней части склонов вдоль предгорной террасы в окрестностях п. Баренцбург в широком спектре локальных экотопов, связанных в основном с неровностями микрорельефа. Для оценки функционального состояния фотосинтетического аппарата (ФА) и его устойчивости к стрессовым воздействиям использовали метод индукции флуоресценции с применением импульсно-модулированного флуориметра (JUNIOR-PAM). После 30-минутной темновой адаптации регистрировали параметры флуоресценции хлорофилла: начальную ( $F_0$ ), максимальную ( $F_m$ ) и переменную флуоресценцию ( $F_v$ ), максимальный квантовый выход ФСII ( $F_v/F_m$ ). Показатель  $F_v/F_m$  является надежным индикатором фотохимической активности фотосинтетического аппарата и может быть использован для определения уровня стресса, вызванного факторами различной природы. Для полевых исследований значения  $F_v/F_m$  равные и выше 0.7 свидетельствуют об оптимальном состоянии растительного организма, значения ниже 0.7 рассматриваются как показатель стресса.

Для каждого исследованного вида (в опыт было включено по 10-50 растений каждого вида) оценивали процент растений, у которых значения  $F_v/F_m$  оказались выше 0.7. Исследование показало, что в оптимальном состоянии по показателю  $F_v/F_m$  были почти все исследованные растения *Saxifraga nivalis* (100%), *Ranunculus sulphureus* (100%), *Chrysosplenium tetrandrum* (100%), *Lusula confusa* (100%), *Bistorta vivipara* (97%), *Oxyria digyna* (96%), *Mertensia maritima* (88%), *Taraxacum arcticum* (87%), *Salix polaris* (84%), *Erigeron humilis* (83%), *Potentilla hyperctica* (81%), *Papaver dahlianum* (80%). Эта группа составила 12 видов, у которых 80-100 % растений находятся в функционально оптимальном состоянии с высокими значениями максимальной квантовой эффективности ФСII. Значение  $F_v/F_m$  ниже выявили у *Cochlearia groenlandica* (77%), *Cerastium alpinum* (77%), *Dryas octopetala* (63%). Для 3 видов камнеломок в оптимально функциональном состоянии оказалось около 50% растений - *Saxifraga foliolosa* (58%), *Saxifraga cernua* (53%), *Saxifraga hieracifolia* (50%). Все особи морошки (*Rubus chamaemorus*) (100%) были в состоянии стресса.

Полученные данные позволяют предположить: 1) имеется большая гетерогенность между особями отдельных видов в пределах небольшой и достаточно ровной территории; 2) большая часть растений из исследованных видов находится в функционально активном оптимальном состоянии и показывает высокие значения максимальной квантовой эффективности; 3) узко локальные местообитания оказывают значимое влияние на функциональную активность растений. Растения одного вида, произрастающие на расстоянии нескольких метров, могут иметь различную функциональную активность. Следует отметить, что в группе с оптимальными значениями  $F_v/F_m$  оказались наиболее распространенные виды, осваивающие широкий спектр экотопов, то есть эти виды даже при таком анализе показали свои преимущества при «выборе» экотопа. Исходный растительный материал имеет высокий уровень гетерогенности, что свидетельствует о важности подбора растений для экспериментальных исследований.

## Устойчивость интрогрессивных форм пшеницы к абиотическим факторам (NDVI-технологии)

Масимгазиева А.С., Абуғалиева А.И., Кожухметов К.

Казахский научно-исследовательский институт земледелия и растениеводства, Казахстан, Алматинская область,  
п.Алматыбак  
[miss.masingazieva@mail.ru](mailto:miss.masingazieva@mail.ru)

Адаптивное геномное разнообразие диких видов лучший резерв и ресурс. В нынешнее время с внедрением новых технологии актуальным становится вопрос целенаправленного поиска и переноса генов конкретных признаков. Поиск источников перспективен на диких сорочках – отобранных природой. Создание интрогрессивных форм создает базу генотипов для поиска новых игенов из гермоплазмы диких видов, разной пloidности.

Основная цель работы – изучение интрогрессивных форм пшеницы под влиянием абиотических факторов среды. Метод исследования – полевые анализы селекционного материала по устойчивости, используя метод NDVI.

Одним из перспективных современных методов оценки развития листового аппарата и накопления зеленой массы растений для обеспечения фотосинтетической активности и в целом интенсивности ростовых процессов использовали NDVI – технологию, которая позволяет определить стандартизированный индекс различий растительности.

С помощью переносного датчика NDVI обеспечивается быстрое измерение уровня развития сельскохозяйственных культур путем оценки: индекса листовой поверхности и зеленого индекса площади, биомассы и содержания питательных веществ. Данные могут быть использованы для оценки прогноза урожая, накопления биомассы и темпов роста, эффективности усвоения почвенного питания для характеристики энергии прорастания, оценки старения и для обнаружения биотического и абиотического стресса. В наших полевых опытах технология NDVI применялась для измерения накопления вегетативной массы в процессе вегетации по фенологическим фазам развития.

Скрининг ресурсного материала методом NDVI позволил выявить вариабельность в накоплении вегетативной массы от 0,23 до 0,76 в фазу кущения и от 0,63 до 0,82 в фазу трубкования в урожае 2015 года; от 0,34 до 0,61 в фазу кущения и от 0,50 до 0,84 в фазу трубкования в урожае 2016 года.

В ходе наблюдений показывает, что уровень накопления биологической массы дает ответную реакцию на стрессовые условия окружающей среды. Среди интрогрессивных форм пшеницы 2015 году в фазе кущения максимальным показателем выделились генотипы *Steklovidnaya 24 x T.timopheevii* и *Эрмроспермум 350 x T. Militinae*; в фазе трубкования *Bezostaya 1 x Ae. Cylindrica u (Bezostaya 1 x T.militinae) x T. militinae-4*. Показания этих данных в 2016 году повторно подтвердили максимальным значениям в этих же фенологических фазах.

На предварительном этапе скрининга методом NDVI диких форм и сортов пшеницы (родительских форм для интрогрессивных форм) установлен ряд убывания по накоплению продуктивной биомассы в фазу цветения: *T.kiharae* (0,75) > *T.timopheevii* (0,66) > *T.militinae* (0,58) > *T.aestivum* (0,58-0,43). Полученные данные в целом коррелируют и дополняют результаты селекционно-генетических характеристик диких сорочичей пшеницы, полученные ранее.

## Изменение состава ионообменных групп клеточных стенок корней пшеницы при различных условиях азотного питания

Мейчик Н.Р., Николаева Ю.И., Кушунина М.А.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова. Ленинские горы, д. 1, Москва, Россия  
[meychik@mail.ru](mailto:meychik@mail.ru)

Наличие азота в среде является одним из основных факторов, определяющих рост и продуктивность растений. Растения получают азот из почвы главным образом в форме неорганических ионов – нитрата  $\text{NO}_3^-$  и аммония  $\text{NH}_4^+$ . Форма, в которой азот присутствует в среде, влияет на такие интегральные физиологические параметры растения как, например, фотосинтетическая продуктивность, поглощение и транспорт других макро- и микроэлементов, рост главного и боковых корней. Вместе с тем, тонкие механизмы процесса адаптации растения к различным количествам и форме почвенного азота во многом не известны, в частности те, что связаны с функционированием клеточной стенки (КС). Анализ данных литературы показывает, что информация о влиянии различных форм азотного питания на состав и свойства полимерного матрикса клеточных стенок крайне ограничена. Цель настоящего исследования заключалась в выявлении изменений состава ионообменных групп в КС корней пшеницы при различных условиях азотного питания.

Объектами исследования служили корни 19-дневных растений пшеницы (*Triticum aestivum* L., сорт «Инна»). Растения выращивали в водной культуре при постоянной аэрации на модифицированной среде Прянишникова: 1)  $\text{NO}_3^-$  вариант:  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  (3 мМ),  $\text{CaHPO}_4$  (1 мМ),  $\text{MgSO}_4$  (0,5 мМ),  $\text{KCl}$  (2 мМ),  $\text{FeCl}_3$  (0,15 мМ); 2) N-дефицитный вариант:  $\text{CaSO}_4$  (2 мМ),  $\text{CaHPO}_4$  (1 мМ),  $\text{MgSO}_4$  (0,5 мМ),  $\text{KCl}$  (2 мМ),  $\text{FeCl}_3$  (0,15 мМ). Смена растворов проводилась раз в 4 дня. Растения содержали в климатической камере при температуре 24–26°C и световом режиме 14 ч (день) и 10 ч (ночь), освещенности 110 мкмоль фотонов/м<sup>2</sup>×с. Клеточные стенки выделяли путем последовательной обработки отсеченных корней (~3 г) растворами электролитов (1%  $\text{NaOH}$  (~0,5 л) –  $\text{H}_2\text{O}$  (~2 л) – 1%  $\text{HCl}$  (~0,5 л) –  $\text{H}_2\text{O}$  (до исчезновения  $\text{Cl}^-$  в промывных водах), а затем высушивали до постоянного веса при 60°C. Определение количественного и качественного состава ионообменных групп проводили методом потенциометрического титрования.

Клеточные стенки обоих вариантов достоверно не отличались по количеству карбоксильных групп полигалактуроновой и гидроксикоричных кислот (ГКК). Различие состояло только в содержании фенольных ОН-групп: при дефиците азота их количество было в 2,4 раза больше. Можно предположить, что количество пектинов и ГКК в КС корня не изменяется при дефиците азота в среде по сравнению с нитратным питанием, тогда как количество лигнина резко возрастает. Повышенное содержание фенольных соединений в тканях корня было также показано другими авторами для N-дефицитных растений *Matricaria chamomilla*. Следует отметить, что интенсивная лигнификация вторичной КС наблюдается при воздействии и других неблагоприятных факторов внешней среды, таких как засуха, пониженные температуры и засоление.

Клеточные стенки исследуемых растений значительно отличались по доле КС от сухой массы корней. Значение этого показателя в N-дефицитном варианте составило  $57 \pm 2,1\%$  (среднее  $\pm$  стандартная ошибка среднего), в то время как у растений на нитратном питании –  $46 \pm 3,5\%$ . Можно предположить, что увеличение массы КС происходит за счет накопления в ней лигнина. Кроме того, известно, что при дефиците азота снижаются затраты углеводов на восстановление нитрата и ассимиляцию аммония в корнях, поэтому может активизироваться синтез целлюлозы и сшивочных гликанов, не имеющих в своем составе ионообменных групп.

Известно, что коэффициент набухания синтетического ионообменного материала определяется в первую очередь степенью поперечной сшивки полимерных цепей. Можно полагать, что экспериментальная оценка набухания клеточной стенки, как природного ионообменника, даст возможность оценить жесткость ее трехмерной структуры и способность изменять объем под воздействием различных внешних факторов. Измерение коэффициента набухания КС ( $K_{КС}$ ) показало, что во всем исследуемом диапазоне рН в N-дефицитном варианте этот показатель ниже, чем в  $\text{NO}_3^-$ -варианте на 10–30% в зависимости от рН раствора, при этом с увеличением рН возрастает и значение  $K_{КС}$ . Этот результат свидетельствует о том, что при недостатке азота возрастает степень сшивки полимеров КС, вероятно, за счет ее интенсивной лигнификации. Можно полагать, что такая реакция имеет место только в не растущих частях корня, так как известно, что отсутствие азота в среде стимулирует рост корней, для которого необходимо разрыхление КС в растущих участках. Развитие более мощной корневой системы в N-дефицитном варианте по сравнению с  $\text{NO}_3^-$  вариантом наблюдалось и в нашем эксперименте.

Таким образом в ответ на стресс, обусловленный дефицитом азота в среде, происходит активация синтеза лигнина во вторичной КС корней, что вызывает увеличение массовой доли КС в общей массе корня и снижение ее способности к набуханию.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 16-34-00201: анализ состава и свойств изолированных клеточных стенок) и в соответствии с НИР кафедры физиологии растений МГУ (№ АААА-А16-116021660106-0: культивирование растений).

**Роль клеточных стенок в поглощении меди и никеля корнями растений***Мейчик Н.Р., Николаева Ю.И., Кушунина М.А.*

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова. Ленинские горы, д. 1, Москва, Россия  
[meychik@mail.ru](mailto:meychik@mail.ru)

В ответ на металл-стресс растения используют два типа противоположных по сути стратегий, включающих пектины клеточной стенки (КС) корней. Одна из них заключается в снижении степени метилирования карбоксильных групп уруновых кислот и, таким образом, увеличении числа сайтов связывания металлов, а другая – в увеличении степени этерификации карбоксильных групп в составе пектинов и в снижении способности КС связывать катионы. Авторы известных работ отмечают, что первая из упомянутых стратегий более характерна для чувствительных растительных культур, чем для устойчивых к действию металлов. Цель настоящей работы состояла: 1) в оценке роли клеточной стенки корней растений маша (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek) и пшеницы (*Triticum aestivum* L., сорт «Инна») в поглощении меди и никеля при разных концентрациях этих металлов (0,5–100 мкМ) в среде; 2) в ответе на вопрос, модифицируется ли состав пектин-содержащих полимеров КС в ответ на присутствие меди и никеля в среде.

Объектами исследования служили растения пшеницы и маша, выращенные на питательных растворах (0,13 мМ  $\text{NO}_3^-$ , 0,05 мМ  $\text{PO}_4^{3-}$ , 0,05 мМ  $\text{K}^+$ , 0,5 мМ  $\text{Ca}^{2+}$ , 0,1 мМ  $\text{Mg}^{2+}$ , 0,1 мМ  $\text{SO}_4^{2-}$ , 0,5 мкМ  $\text{Cu}$  ( $\text{Ni}$ ), pH 7,5) при температуре 24–26°C и световом режиме 14 ч (день) и 10 ч (ночь). 9-дневные растения переносили в сосуды со 150 мл раствора с разной концентрацией  $\text{CuCl}_2$  или  $\text{NiCl}_2$  (0,5–100 мкМ) и выдерживали в климатической камере 24 часа при непрерывной аэрации раствора. Клеточные стенки выделяли из корней 10-дневных растений и подвергали аналогичной обработке растворами  $\text{CuCl}_2$  или  $\text{NiCl}_2$  (0,5–100 мкМ).

Сравнительный анализ данных о свойствах КС корней исследуемых растений показывает, что у пшеницы не происходит статистически значимых изменений при всех  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Ni}^{2+}$  обработках ни в количестве пектиновых полимеров, ни в степени их метилирования, так как медь- и никель-связывающая способность стенок опытных и контрольных растений в расчете на сухую массу корня и на сухую массу КС остается неизменной. Следует отметить также, что не обнаружено изменений и в массовой доле КС относительно сухой массы корня, что свидетельствует о том, что синтез компонентов клеточной стенки и ее формирование осуществляется так же, как и у контрольных растений. Таким образом, можно заключить, что в корнях пшеницы в ответ на  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Ni}^{2+}$ -стресс не реализуются упомянутые выше стратегии защиты через модификацию пектинов КС.

В корнях маша при всех  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Ni}^{2+}$  обработках происходят изменения в составе полимеров КС, и эти изменения зависят от концентрации  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Ni}^{2+}$  в растворе. Анализ полученных результатов показал, что КС маша модифицируется как через уменьшение в общем содержании пектиновых полимеров, так и через увеличение степени их метилирования. Кроме того, было установлено, что при действии высоких концентраций этих металлов на растения (50 и 100 мкМ) существует еще одна возможность модификации КС корней, заключающаяся в усилении синтеза в равной мере всех ее компонентов, в том числе и пектинов.

Для определения роли экстраклеточного механизма защиты клеток корня от воздействия тяжелых металлов нами проведена сравнительная оценка накопления меди и никеля корнями транспирирующих растений и изолированными из них КС. В соответствии с полученными результатами, вплоть до концентрации металла 50 мкМ содержание ионов  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Ni}^{2+}$  в КС в пределах погрешности эксперимента совпадало с содержанием этих металлов в корне. Кроме того, в этом концентрационном диапазоне содержание металлов в надземной части растений увеличивалось не более чем 1,5–3 раза. Известно, что ионы могут поступать в стель корня по апопласту, минуя симпласт, через три сайта: в месте отхождения боковых корней, где происходит разрыв эндодермы, через пропускные клетки, и через кончик корня, где пояски Каспари недостаточно развиты. Наши результаты дают основание полагать, что в диапазоне концентраций  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Ni}^{2+}$  10–50 мкМ накопление этих металлов в КС корней *T. aestivum* и *V. radiata* является основным механизмом защиты клеток от воздействия избыточных концентраций данных токсичных элементов. С увеличением концентрации металлов в среде до 100 мкМ у маша основной вклад в их накопление также вносит КС, тогда как у пшеницы вклад симпласта и апопласта приблизительно равный.

Результаты работы свидетельствуют о большом значении процессов адсорбции  $\text{Ni}^{2+}$  и  $\text{Cu}^{2+}$  на КС в экспериментах с кратковременной экспозицией растений на растворах, содержащих металл. Более того, полученные результаты дают основание предположить, что у некоторых растений, особенно у тех, которые имеют высокое содержание пектиновых веществ, депонирование  $\text{Ni}^{2+}$  и  $\text{Cu}^{2+}$  в КС корня является основным, а может быть и единственным, механизмом защиты в ответ на металл-стресс. И это не удивительно, так как клеточные стенки – это первый компартмент растительной клетки, контактирующий с избытком металла. Следует подчеркнуть, что использование нашего подхода позволяет увидеть функционирование и внутриклеточных механизмов защиты. Так, у пшеницы при высокой концентрации  $\text{Ni}^{2+}$  и  $\text{Cu}^{2+}$  в среде (100 мкМ) происходит накопление металлов в протопласте клеток корня, но очевидно, что данный механизм защиты “включается” происходит после того, как внеклеточный механизм защиты исчерпал свои возможности.

Работа выполнена в соответствии с НИР кафедры физиологии растений МГУ № АААА-А16-116021660106-0.

## Роль размеров клетки мезофилла в адаптации фотосинтетического аппарата берез к климату

Мигалина С.В., Иванова Л.А.

Ботанический сад УрО РАН, ул 8 Марта, 202а, Екатеринбург, Россия  
[Fterry@mail.ru](mailto:Fterry@mail.ru)

Адаптация растений к климату связана с генетически закрепленными изменениями фотосинтетического аппарата. Известно, что процессы формирования структуры листа также регулируются на генетическом уровне. Вместе с тем, данные о генетической детерминированности структурных параметров мезофилла, таких как размеры, форма и число клеток, остаются немногочисленными. Это связано с тем, что достаточно сложно получить доказательства наличия генетического контроля над количественными параметрами мезофилла, которые зависят от многих факторов. Уникальным и эффективным методом изучения наследуемости признаков растений является создание популяционных культур. В 70-х гг. в окрестностях г. Екатеринбурга на Среднем Урале были созданы полусибсовы культуры берез, моделирующие географические ряды уральских и западно-сибирских популяций на всем протяжении их ареала. Исследования, проведенные в данных культурах, показали, что продукционные параметры берез генетически закреплены и связаны с адаптацией к климату района произрастания. Поскольку фотосинтез является основным процессом, определяющим продуктивность растений, изучение наследуемости параметров фотосинтетического аппарата представляет большой интерес. Ключевым параметром структуры листа является объем клетки мезофилла, от которого зависят такие важные с физиологической точки зрения параметры, как толщина листа, масса единицы площади листа, концентрация хлоропластов и площадь общей ассимиляционной поверхности мезофилла.

Исследования проводили в течение трех вегетационных сезонов в природных популяциях *Betula pendula* Roth и *B. pubescens* Ehrh., представляющих зонально-климатический ряд Урала и Западной Сибири от степи до лесотундры, а также в географических полусибсовых культурах этих видов. Листья для анализа отбирали в каждой популяции у 25–30 средневозрастных деревьев с укороченных побегов наружной части нижней трети кроны южной экспозиции. Количественные параметры мезофилла (размеры клеток и число хлоропластов в клетке) определяли с помощью светового микроскопа Zeiss Axioscope ("Zeiss", Германия) и лабораторного комплекса Simagis Mesoplant («СИАМС», Россия). Содержание азота в сухом материале измеряли с помощью CHN-анализатора, соединенного с изотопным масс-спектрометром ("Finnigan MAT Delta S", Германия). Фотосинтетическую способность листьев оценивали на основе расчетных значений максимальной интенсивности фотосинтеза  $A_{max}$  (нмоль  $г^{-1} с^{-1}$ ), используя содержание азота в листьях и их удельную поверхностную плотность, согласно регрессионной модели (Reich et al. 1997).

Обнаружено 1.5–2-кратное линейное увеличение размеров клеток палисадного и губчатого мезофилла вдоль зонально-климатической трансекты в направлении с юга на север. Объемы клеток в популяциях из степной зоны имели значения 2,8  $мкм^3$  у *B. pendula*, 3,3  $мкм^3$  – у *B. pubescens*, в северо-таежной подзоне они увеличивались до 4,6  $мкм^3$  и 6,4  $мкм^3$ , соответственно. Число хлоропластов в клетке положительно коррелировало с объемом клетки ( $r = 0.95$ ,  $p < 0.001$ ) и также увеличивалось с широтой. При этом объем клетки мезофилла в листьях *B. pubescens* в каждой точке трансекты был выше в среднем на 20%. *B. pubescens* отличалась также более высоким числом хлоропластов в клетках, по сравнению с *B. pendula*. Погодные условия сезона не влияли на размеры клеток и связанные с ними параметры. В географических культурах размеры клеток и число хлоропластов имели аналогичные природным популяциям значения, что свидетельствует о генетической детерминированности данных параметров.

Увеличение размеров клеток обусловило снижение поверхностно-объемного отношения мезофилла в направлении северных широт. Найдена тесная связь изменения объема клетки с географической широтой ( $r = 0.99$ ,  $p < 0.001$ ) и среднегодовой температурой воздуха ( $r = -0.95$ ,  $p < 0.001$ ). Более крупные клетки имеют меньшую поверхность в расчете на единицу объема, что позволяет экономить энергетические ресурсы для поддержания необходимого уровня метаболизма в условиях холодного климата.

Содержание азота в листьях берез не изменялось вдоль трансекты, за исключением более высоких значений в северных популяциях *B. pubescens*. Стабильность этого показателя свидетельствует об устойчивой активности фотосинтетических процессов в изученных природных популяциях берез, поскольку 75% азота листа приходится на белки хлоропластов. Фотосинтетическая способность листьев также оставалась высокой на протяжении всей трансекты и составляла в среднем 10,7–13,5  $мкмоль CO_2 м^{-2}с^{-1}$ . Исходя из того, что параметры клеток непосредственно влияют на мезофильное сопротивление диффузии  $CO_2$  из межклеточных пространств к центрам карбоксилирования, мы предполагаем, что обнаруженные нами изменения клеточной структуры листа направлены на оптимизацию газообмена при изменении климатических условий. Работа поддержана РФФИ № 15-04-06574.



## Влияние обработки семян плазмой разрядов атмосферного давления на морфогенез и продуктивность *Cucumis sativus* гибрида Кураж

Минич А.С., Минич И.Б., Домашевская А.Г., Чурсина Н.Л., Гизбрехт С.В., Кудряшов С.В.\*

Томский государственный педагогический университет. Киевская ул., 60, Томск, Россия

\*Институт химии нефти СО РАН. Академический пр., 3, Томск, Россия

[minich@tspu.edu.ru](mailto:minich@tspu.edu.ru)

В настоящее время проводятся многочисленные исследования по улучшению предпосевных качеств семян сельскохозяйственных культур, в том числе с использованием плазмы. Показано, что предпосевная обработка семян плазмой различных источников, особенно плазмой разрядов атмосферного давления, способствует более раннему прорастанию семян, повышает их всхожесть, стимулирует ростовые процессы на начальных этапах онтогенеза. Считается, что интенсификация процессов в семенах может быть связана с изменениями их водной проницаемости из-за образования крошечных отверстий в семенной коже после их обработки плазмой, а также с изменениями в уровне эндогенных гормонов. Однако практически все данные представлены результатами исследований растений в возрастном состоянии проростка. Результаты дальнейших исследований изменения морфогенеза и продуктивности растений, выращенных из обработанных плазмой семян, невелики и фрагментативны.

Целью исследований являлось изучение влияния предпосевной обработки семян плазмой разрядов атмосферного давления на морфогенез и продуктивность *Cucumis sativus* L. гибрида Кураж.

Семена обрабатывали в плазмохимическом реакторе с планарным расположением электродов и одним диэлектрическим барьером из стеклотекстолита толщиной 2 мм. Площадь высоковольтного электрода составила 48 см<sup>2</sup>, величина разрядного промежутка – 2 мм, амплитуда высоковольтных импульсов напряжения – 8 кВ, частота повторения – 2 кГц. Продолжительность обработки семян составляла 10, 30 и 60 с.

Исследования энергии прорастания семян проводились в светокультуре. Семена проращивались в лабораторных условиях в чашках Петри на фильтровальной бумаге, смоченной в 15 мл дистиллированной воды, проращивались под лампами ДНАЗ-150 (Россия) с интенсивностью светового потока 120 Вт/м<sup>2</sup> с фотопериодом 16 ч при температуре 24°C. Для изучения роста, развития и продуктивности *Cucumis sativus* L. выращивался в теплицах из проросших 3-суточных семян в почвенной культуре, плотность посадки – 3шт/м<sup>2</sup>.

Результаты исследований показали, что относительно контроля энергия прорастания обработанных плазмой семян в течение 10, 30 и 60 с была выше на 29, 43 и 29% соответственно. При этом контрольные семена проросли на 70%, а обработанные плазмой в течение 30 с – на 100%. В дальнейшем у всех опытных растений наблюдали на 2-3 суток более раннее раскрытие семядолей и формирование первых настоящих листьев. Это указывает на то, что 10-60-секундная предпосевная обработка семян *Cucumis sativus* плазмой разрядов атмосферного давления приводит к улучшению их посевных качеств, и интенсифицирует ростовые реакции на начальном этапе онтогенеза (в возрастном состоянии проростка).

Однако, начиная с прегенеративного периода (с формирования второго настоящего листа), у опытных и контрольных растений достоверных изменений в смене фенологических фаз не наблюдали, и не выявили изменений в их росте и развитии. Исключение составили растения, выращиваемые из семян, которые в течение 10 с были обработаны плазмой. У таких опытных растений наблюдалось угнетение роста и развития: меньшая в 1,4 раза длина главного стебля, в 1,6 раза площадь поверхности листьев. Это может свидетельствовать о более активном использовании запасных веществ зародыша на начальном этапе онтогенеза у опытных растений. В дальнейшем стимулирующий эффект, вызванный плазмой, уменьшается из-за быстрого их расхода, что приводит к выравниванию и даже ухудшению ростовых процессов. Вероятно, 10-секундная обработка семян *Cucumis sativus* плазмой по продолжительности является недостаточной для их активации.

Формирование репродуктивных органов происходило одновременно в опыте и контроле, число завязей достоверно не отличалось в начале их образования (до 50 суток). В дальнейшем у всех опытных растений часть завязей загнивала и погибала, причем наблюдалась закономерность: чем меньше времени обрабатывались семена плазмой, тем раньше и больше завязей погибало у растений из них выращенных. Это отразилось на продуктивности *Cucumis sativus*. В начале сбора урожая (первые 5 суток) относительно контроля продуктивность огурцов, выращенных из семян, которые были обработаны плазмой в течение 10, 30 и 60 с, составляла 67, 87 и 125% соответственно. В дальнейшем продуктивность опытных растений снижалась, она не превышала продуктивность контрольных растений. На момент ликвидации культуры (118 суток) урожайность составила соответственно 60, 66 и 67% относительно контроля.

Таким образом, продуктивность огурцов, выращиваемых из прошедших предпосевную обработку плазмой разрядов атмосферного давления семян, значительно уменьшается по сравнению с контрольными растениями. Снижение урожайности, возможно, связано с угнетением иммунной системы растений при проведении предпосевной обработки семян. Можно также предположить, что пониженная продуктивность опытных растений связана с изменением их гормонального баланса. По литературным данным на более поздних стадиях развития у таких растений, вероятно, активируется синтез гиббереллинов, которые вызывают закладку мужских цветков, что в результате приводит к уменьшению образования женских цветков и снижению плодоношения.

## Влияние обработки семян плазмой разрядов атмосферного давления на морфогенез и продуктивность *Lactuca sativa*

Минич А.С., Минич И.Б., Кулакова В.О., Иванова И.Д., Чурсина Н.Л., Массон К.В., Гизбрехт С.В., Кудряшов С.В.\*

Томский государственный педагогический университет. Киевская ул., 60, Томск, Россия;

\*Институт химии нефти СО РАН. Академический пр., 3, Томск, Россия

[minich@tspu.edu.ru](mailto:minich@tspu.edu.ru)

Одним из возможных направлений повышения интенсивности морфогенеза и продуктивности растений является предпосевная обработка семян низкотемпературной плазмой. Некоторые исследования показали, что низкотемпературная плазма может увеличить предпосевные качества семян, включая раннее прорастание, более высокую всхожесть, быстрый рост, активность ферментов. Исследования прорастания семян и ростовых особенностей проростков растений использовались семена, обработанные плазмой различных источников, которые создают различные концентрации в плазме активных форм, заряженных частиц и фотонов. Кроме того, большинство представленных в литературе результатов заканчиваются исследованиями проростка.

Цель наших исследований – изучение влияния предпосевной обработки семян *Lactuca sativa* L. плазмой разрядов атмосферного давления на его морфогенез и продуктивность.

Для обработки семян использовали плазмохимический реактор с планарным расположением электродов и одним диэлектрическим барьером из стеклотекстолита толщиной 2 мм. Площадь высоковольтного электрода составила 48 см<sup>2</sup>, а величина разрядного промежутка – 2 мм. Амплитуда высоковольтных импульсов напряжения – 8 кВ, частота повторения – 2 кГц. Продолжительность обработки семян составляла 5, 10, 15 и 25 с.

*Lactuca sativa* L. 'Лолло Бионда' выращивали в светокультуре до технической спелости (35 суток) в почвенной культуре. Семена *Lactuca sativa* были посеяны в контейнерах с дренажными отверстиями и проращивались под лампами ДНАЗ-150 (Россия) с интенсивностью светового потока 120 Вт/м<sup>2</sup> с фотопериодом 16 ч при температуре 24°C.

Результаты исследований показали, что относительно контроля энергия прорастания обработанных плазмой семян была выше на 11-23%, а их лабораторная всхожесть – на 1-3% в зависимости от продолжительности их обработки. Это указывает на то, что 5-25-секундная предпосевная обработка семян *Lactuca sativa* плазмой разрядов атмосферного давления приводит к улучшению их посевных качеств.

При прорастании зародыша семени во всех вариантах исследований происходило закономерное удлинение корня. Отмечено более интенсивное удлинение главного корня семени у опытных растений по сравнению с контрольными растениями, однако его длина зависела от времени обработки семян плазмой.

Первые сутки у всех опытных семян длина корня была больше в 2 раза (5 с) и в 2,5 раза (10, 15 и 25 с) по сравнению с контролем. В последующие сутки (2-4 сутки) также наблюдали более интенсивный рост главного корня у опытных растений относительно контроля. По литературным данным интенсификация прорастания корня может быть связана с изменениями в водной проницаемости из-за образования крошечных отверстий в семенной коже после их обработки плазмой, а также с изменениями уровня эндогенных гормонов. При этом выявили зависимость величины прироста от времени обработки семян плазмой: уменьшение времени обработки семян способствует более активному росту главного корня. Так у семян, обработанных плазмой в течение 5, 10, 15 и 25 с, относительно контроля на 2-ые сутки увеличение длины главного корня было больше в 3,61; 3,44; 3,11 и 2,83 раза, на 3-ьи сутки – в 2,31; 2,26; 2,12 и 2,04 раза, на 4-ые сутки – в 1,42; 1,39; 1,28 и 1,20 раза. Такой результат согласуется с литературными данными, в которых показано, что увеличение дозы экспозиции плазмой приводит к уменьшению ростовой активности семян. Это может быть связано с передозировкой активного кислорода и азота, образующихся под воздействием плазмы, которые играют важную роль в регуляции эндогенных гормонов на стадии прорастания семян, а также на ранней стадии развития растений.

Со стадии формирования настоящих листьев достоверных изменений в росте, развитии и продуктивности для растений, выращенных из обработанных плазмой в течение 5 и 25 с семян, не выявили. Для *Lactuca sativa*, выращенных из обработанных плазмой в течение 10 и 15 с семян, установили достоверно большее число листьев (на 20%), площади поверхности листьев (на 60%), сырой (на 40-60%) и сухой биомассы (20-30%) побега, сырой (в 1,8-2 раза) и сухой биомассы (на 70%) корней.

Таким образом исследования показали, что предпосевная обработка семян *Lactuca sativa* L. 'Лолло Бионда' плазмой разрядов атмосферного давления в течение 5, 10, 15 и 25 с способствует стимулированию энергии прорастания и лабораторной всхожести семян, что приводит к увеличению длины осевых органов проростков. Возможно, данные экспозиции семян плазмой разрядов атмосферного давления, являются наиболее оптимальными, так как приводят к более быстрому процессу их набухания. Было выявлено стимулирующее влияние на рост и развитие вегетативных органов *Lactuca sativa*, выращенных из семян, которые были обработаны плазмой в течение 10 и 15 с, что привело к увеличению их продуктивности. Вероятно, обработка семян растений плазмой в течение 5 с является недостаточной, а в течение 25 с избыточной, чтобы запустить более активную программу морфогенеза.

## Исследования *in vitro* реликтовых эндемиков флоры Крыма

Митрофанова И.В., Митрофанова О.В., Никифоров А.Р., Иванова Н.Н., Лесникова-Седошенко Н.П.,  
Жданова И.В.

ФГБУН «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН». Никитский спуск, 52, пгт. Никита, Ялта, Крым, Россия  
[invitro\\_plant@mail.ru](mailto:invitro_plant@mail.ru)

Сохранение раритетного биогенофонда редких видов региональных флор имеет особую актуальность. В частности, реликтовые эндемики до настоящего времени оставались практически не изученными. Эти виды являются редкими и исчезающими элементами флоры Горного Крыма. С 2004 года по настоящее время растения реликтовых эндемиков наблюдаются *in situ* и выращиваются *ex situ* (лаборатория флоры и растительности), но данные исследования не позволяют получить растения для более углубленных исследований: генетических, биологических, физиолого-биохимических.

С 2014 года исследования данной группы видов начаты и продолжаются в лаборатории биотехнологии и вирусологии растений Никитского ботанического сада – Национального научного центра. Объектами исследования были семена, собранные *ex situ* и *in situ*, а также проростки, полученные в условиях *in vitro*, видов *Heracleum ligusticifolium* M. Bieb. (Apiaceae), *Sobolewskia sibirica* (Willd.) P.W. Ball (Brassicaceae), *Lagoseris callicephal* Juz. (Asteraceae), *Lagoseris purpurea* (Willd.) Boiss. (Asteraceae), *Lamium glaberrimum* (K. Koch) Taliev (Lamiaceae), *Scrophularia exilis* Popl. (Scrophylariaceae), *Silene jailensis* N.I. Rubtzov (Caryophyllaceae), *Valerianella falconida* Schvedtsch. (Valerianaceae). Перечисленные виды внесены в Красную книгу Республики Крым и относятся к 3 категории редкости.

Вид *Silene jailensis* по своей экологической природе относится к облигатным хазмофитам – «растениям трещин». Виды *Lamium glaberrimum*, *Scrophularia exilis*, *Sobolewskia sibirica* представляют собой облигатные гляреофиты – «растения осыпей». *Heracleum ligusticifolium*, *Lagoseris callicephal* и *Lagoseris purpurea* являются видами двойной экологической природы, способные к развитию как на покрытых трещинами скальных поверхностях, так и на коллювии осыпных чехлов.

При морфометрическом описании семян выявлено, что самые крупные размеры эксплантов (семян) имеют виды *Heracleum ligusticifolium*, *Sobolewskia sibirica*, *Valerianella falconida* и *Lamium glaberrimum*. Эти данные были использованы при подборе режимов стерилизации. Разработан оптимальный способ стерилизации семян. Семена стерилизовали 1 мин в 60% растворе этанола, 6 мин в 1% растворе Thimerosal, 1,5 мин в 0,3-0,4% растворе «ДезТаб» с добавлением 2-3 капель Tween-20. После каждого реагента экспланты трижды промывали в стерильной дистиллированной воде. Лучшее прорастание семян отмечено у видов *Silene jailensis*, *Lagoseris callicephal* и *Lagoseris purpurea* на питательной среде Монье (1973).

Единичные проростки были получены у видов *Heracleum ligusticifolium*, *Scrophularia exilis* и *Valerianella falconida*. Выяснено, что выращивание растений указанных видов затруднено, вероятно, из-за специфического субстрата, характерного для их природного развития – мелкозема.

Регенерация микропобегов из проростков происходила на питательной среде МС (1962), дополненной 0,1-0,5 мг/л БАП и 0,05-0,15 мг/л НУК. Инициацию развития пазушных почек и микророзеток наблюдали на среде с минимальным содержанием регуляторов роста: 0,05-0,1 мг/л БАП и 0,15 мг/л НУК. Высокой регенерационной способностью обладали виды *Silene jailensis*, *Lagoseris callicephal*, *Lagoseris purpurea* и *Heracleum ligusticifolium*. При этом коэффициент размножения микропобегов достигал у *Silene jailensis* 1:5 – 1:30, у *Lagoseris callicephal* и *Lagoseris purpurea* – 1:18. Высоким морфогенетическим потенциалом обладал вид *Heracleum ligusticifolium*. При регенерации проростков отмечено массовое появление дополнительных микропобегов и новых структур из разных органов проростка, что очевидно способствует ускорению его онтогенетического развития.

У большинства исследуемых видов проростки, микропобеги и микророзетки формируют слабые нитчатые корни, что затрудняет их преадаптацию *ex vitro*. В связи с этим на Биотроне разрабатываются специальные субстраты для адаптации регенерантов в асептических условиях.

## Исследование гелеобразования пектиновых полисахаридов

Михайлова Е.А., Мелехин А.К., Шубаков А.А.

ФГБУН Институт физиологии Коми НЦ УрО РАН, 167982, ул. Первомайская, д. 50, ГСП-2, г. Сыктывкар, Россия  
[elkina@physiol.komisc.ru](mailto:elkina@physiol.komisc.ru)

Пектиновые полисахариды являются природными водорастворимыми, нетоксичными, биodeградируемыми и биосовместимыми полисахаридами растительного происхождения, обладающими высокой физиологической активностью. Пектиновые полисахариды, главную углеводную цепь которых составляют 1,4-связанные остатки  $\alpha$ -D-галактопиранозилурановой кислоты, способны к гелеобразованию и в последние годы проводятся исследования по использованию пектинов в виде сферических частиц для систем направленной доставки лекарств в организме (DDS – drug delivery systems). Кальций-пектиновые гелевые частицы задерживают высвобождение лекарства в верхних отделах желудочно-кишечного тракта и высвобождают его в результате деградации частиц пектинолитическими ферментами толстой кишки. Гиалуроновая кислота (ГК) – биосовместимый иммунонейтральный мукополисахарид, макромолекулы которого состоят из дисахаридных звеньев, компонентами которых являются N-ацетил-D-глюкозамин и D-глюкуроновая кислота, связанные между собой  $\beta$ -1 $\rightarrow$ 4 и  $\beta$ -1 $\rightarrow$ 3 связями. В последние годы ГК в виде солей, полиэлектролитных комплексов или смесей с другими веществами полимерной или иной природы находит все большее применение в эстетической медицине, глазной хирургии, лечении суставных заболеваний, тканевой инженерии, в качестве противоспаечного барьера для предупреждения образования спаек. Однако, биомедицинское применение ГК затрудняется ее коротким временем существования и недостаточной механической прочностью в водном окружении.

Для повышения прочности и эффективности природных полимеров как носителей лекарств они конъюгируются. Нами впервые получены комплексные гидрогелевые частицы из гиалуроновой кислоты и пектинов каллусных культур.

Цель настоящей работы заключалась в получении и изучении морфологии и деградации пектиновых и гиалуронан-пектиновых гелевых частиц в условиях искусственной гастроэнтеральной среды как потенциальных систем для направленной доставки лекарств в отделы тонкой и толстой кишки.

В работе использовали гиалуроновую кислоту из петушиных гребней («Sigma-Aldrich», Великобритания) с молекулярной массой >300 кДа, коммерческий яблочный пектин AU 701 со степенью метоксилирования 36-44% и с молекулярной массой 406 кДа (AP, «Herbstreith & Fox KG», Германия), низкометилэтерифицированные пектины (6-22%) из каллусных культур пижмы обыкновенной *Tanacetum vulgare* L. (TVC), ряска малой *Lemna minor* L. (LMC), смолевки обыкновенной *Silene vulgaris* (M.) G. (SVC) с молекулярными массами >300 кДа, хлорид кальция (CaCl<sub>2</sub>, «Sigma», США).

Гиалуронан-пектиновые гелевые частицы были получены в присутствии ионов кальция с помощью метода ионотропного гелеобразования.

Изучены набухание и деградация пектиновых и гиалуронан-пектиновых гелевых частиц в условиях искусственной среды желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Гелевые частицы, полученные из пектинов (контроль) и пектинов в комплексе с гиалуроновой кислотой (опыт), характеризовали по степени набухания геля (SD). Гелевые частицы на основе яблочного пектина полностью разрушаются в искусственной среде тонкой кишки SIF как в контроле, так и в опыте. Частицы из геля пектина ряска подвергаются разрушению в искусственной среде толстой кишки SIF + P в контроле, тогда как в опыте в комбинации с ГК только в среде SIF + P спустя 30 минут. Частицы гиалуронан-пектиновых гелей, полученные на основе пектинов каллусных культур смолевки и ряска, по степени набухания существенно между собой не различаются.

Обнаружено, что только частицы гиалуронан-пектиновых гелей, сформированные на основе пектина каллусной культуры пижмы, менее подвержены биodeградации и обладают наибольшей устойчивостью в искусственной среде ЖКТ по сравнению с другими испытанными пектинами, они не разрушаются полностью даже после 24 часов инкубации в среде SIF + P.

Полученные нами гиалуронан-пектиновые гелевые частицы на основе танацетана – пектина каллусной культуры пижмы, обладают достаточно высокой стабильностью в условиях искусственной среды желудочно-кишечного тракта. Можно предположить, что различия в стабильности гиалуронан-пектиновых гелевых частиц, сформированных из разных пектинов, связано с различиями в молекулярных размерах и с особенностями тонкой структуры макромолекул пектинов.

Полученные данные могут свидетельствовать о перспективности дальнейшего изучения свойств гиалуронан-пектиновых гелей, микрочастицы которых могут быть испытаны в качестве систем направленной доставки лекарств в отделы тонкой и толстой кишки.

**Метаболомный профиль некоторых представителей *Actinidia Lindl.****Мотылева С.М., Козак Н.В., Куликов И.М.*

ФГБУН «Всероссийский селекционно-технологический институт садоводства и питомниководства, Загорьевская 4, Москва, Россия.  
[motyleva\\_svetlana@mail.ru](mailto:motyleva_svetlana@mail.ru)

Культура актинидии - мини-киви - приобретает все большую популярность, ее плоды ценны набором биологически активных веществ и могут использоваться для разработки продуктов функционального питания. Содержание сахаров – один из важных показателей качества плодов, так как в балансе с органическими кислотами и летучими ароматическими веществами формирует неповторимый вкус плодов актинидии. Метаболическое профилирование используется для выявления круга метаболитов плодов различных культур. В настоящей работе мы проанализировали метаболические профили плодов представителей четырех видов рода актинидия *Actinidia Lindley*, культивируемых в коллекционных насаждениях ФГБУН ВСТИСП в Подмоскowie, пос. Михнево. Вид актинидия коломикта *Actinidia kolomikta* (Maxim. ex Rupr.) Maxim. представлен сортами Марица, Москвичка, Надежда, Гладкая, Памяти Колбасиной, Чемпион, относящимся к разновидности *var. kolomikta* и образцом Сахалинская 35, *var. Sugavarana*. Вид актинидия аргута *Actinidia arguta* (Siebold ex Zucc.) Plansh. ex Miq., представлен сортом Михневская, относящимся к разновидности *var. Arguta* и сортами Туземка и Алевтина, принадлежащими к подвиду *var. giraldii* (Diels.) Vorosh. Вид актинидия пурпурная *Actinidia purpurea* Rehd. по современным представлениям так же является одним из подвидов вида актинидия аргута *Actinidia arguta*. К нему относится изучаемый образец СП-1. Вид *Actinidia polygama* (Ziebold et Zucc.) Maxim. представлен сортом Злата. Метаболиты экстрагировали водой, водную вытяжку из плодов актинидии концентрировали на ротационном испарителе, добавляли силилирующий (derivатизирующий) агент (БСТФА) и анализировали на газовом хромато-мас-спектрометре JEOL JMS-Q1050GC. Было идентифицировано (с использованием базы масс - спектров Nist) 52 метаболита из семи групп: сахара (А), производные сахаров (В), органические кислоты (С), органические кислоты, входящие в состав масел (D), фенольные соединения (Е), аминокислоты (F), другие соединения (G). Сравнительный анализ показал, что хроматографические профили сортов одного вида имеют идентичный набор метаболитов, но различаются по их количественному содержанию. Идентифицированные метаболиты обладают биологической активностью и относятся к 6 группам соединений:

(А) – сахароза (Suc), фруктоза (Fru), глюкоза (Glc), манноза (Man), ксилоза (Xyl), рибоза (Rib), тагатоza (Tag), трегалоза (Tre), рамноза (Rha), сорбитол (Sol) и мио-инозитол (myo -inositol);

(В) – фуранозные и пиранозные формы моносахаридов – рибофуранозид, фруктофуранозид, глюкофуранозид, ксилопираноза, тагатофураноза, талопираноза;

(С) – органические кислоты – аскорбиновая кислота, яблочная кислота, лимонная и изолимонная кислоты, пентановая (валериановая кислота), додекандикарбоновая, рибионовая, винная кислоты;

(D) – лауриновая (додекановая кислота), миристиновая, пентадекановая, пальмитиновая кислота, октадекановая, линолевая, стеариновая;

(Е), – бензойная кислота, фенилуксусная кислота, анисовая кислота (входят в состав эфирных масел), коричная кислота, миристиновая; (F) – л-аланин, бетаин (производное глицина). Большинство из перечисленных выше веществ присутствуют во всех образцах актинидии, но в разных концентрациях. Таксономически - близкие сорта актинидии (например, Михневская, Туземка, Алевтина и СП-6) содержат идентичные группы веществ.

В плодах сорта Злата (*Actinidia polygama*) обнаружены вещества (G) – халостацин, обладающее высокой биологической активностью, и природный гликозид аукубин, используемый в фармации. Халостацин выделяют из растений и вводят в биологически активные добавки. Плоды актинидии пурпурной (образец СП-6) содержат гидроксипропионовую кислоту, глицинбетаин и карбаминовая кислота – все вещества обладают биологической активностью. Использование ГХМС – анализа позволяет определять одновременно множества метаболитов. Полученные нами результаты будут полезны для оперативного мониторинга, скрининга генетической коллекции и быстрого определения низкомолекулярных метаболитов в образцах. Дальнейшие фундаментальные исследования позволят выявить факторы, участвующие в механизмах регуляции сахаров, одной из самых обширных групп метаболитов, а также будут способствовать лучшему пониманию процессов метаболизма в различных видах представителей рода *Actinidia Lindley*.

## Участие сахарозосинтазы в распределении углерода в период камбиального роста древесных растений

Мощенская Ю.Л., Галибина Н.А., Новицкая Л.Л., Никерова К.М., Подгорная М.Н., Софронова И.Н.

ФГБУН Институт леса КарНЦ РАН, ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Россия  
[moshchenskaya@krc.karelia.ru](mailto:moshchenskaya@krc.karelia.ru)

Форма березы повислой – карельская береза, *Betula pendula* Roth var. *carelica* (Mercklin), известная благодаря аномальной по строению узорчатой древесине, является ценным объектом для изучения механизмов камбиального роста и ксилогенеза древесных растений. В основе ксилогенеза лежит процесс фиксации углерода в составе полимерных компонентов клеточных стенок ксилемы (целлюлозы, гемицеллюлоз, пектиновых веществ, лигнина). Главным источником углерода для биосинтеза полисахаридов является сахароза. Использование сахарозы в метаболизме акцепторных тканей возможно лишь после ее предварительного расщепления инвертазой или сахарозосинтазой (СС). В период камбиального роста древесных растений, при интенсивной дифференцировке ксилемных производных СС является основным ферментом, создающим акцепторную силу растущих тканей ствола. Она катализирует обратимую реакцию превращения сахарозы в присутствии УДФ во фруктозу и УДФ-глюкозу, последняя, при этом, служит субстратом для синтеза глюкановых цепей целлюлозы. Мембраносвязанная форма СС входит в состав целлюлозосинтазного комплекса, где УДФ-глюкоза сразу вовлекается в синтез целлюлозы.

Наши исследования показали, что в зоне формирования ксилемы обычной березы повислой (*B. pendula* var. *pendula*), имеющей «нормальное» (типичное для вида) строение древесины, наблюдается высокая активность СС. Это свидетельствует об использовании большого количества сахарозы в синтезе компонентов клеточных стенок ксилемы, что, в свою очередь, поддерживает высокую акцепторную силу ткани и способствует интенсивному оттоку дисахарида из проводящей флоэмы. У деревьев карельской березы с узорчатой древесиной ствола активность СС в ходе ксилогенеза намного ниже, а концентрация сахарозы в зоне формирования ксилемы и в проводящей флоэме выше, по сравнению с обычной березой.

В ранее проведенных исследованиях было показано возрастание активности инвертазы клеточной стенки (апопластной инвертазы) в ксилеме и флоэме узорчатых деревьев карельской березы. Продуктами инвертазного расщепления сахарозы являются глюкоза и фруктоза. Гексозы представляют собой потенциальные эффекторы сигнальных систем растения, поэтому увеличение их содержания в тканях ствола карельской березы может способствовать запуску каскада морфогенетических реакций, приводящих к формированию узорчатой древесины. Переход к узорчатому строению сопровождается возрастанием числа паренхимных клеток и снижением процентного содержания целлюлозы.

Изменение активности сахарозорасщепляющих ферментов у растений карельской березы происходит за счет изменения уровня экспрессии кодирующих их генов, при этом различия в активности и уровне экспрессии у растений обычной березы повислой и карельской березы проявляются еще на ранних этапах онтогенеза, до начала формирования узорчатой древесины.

Исследования, проведенные на сеянцах березы повислой, показали, что снижение активности СС и уровня экспрессии генов *SUS1* и *SUS2* (*sucrose synthase 1, 2*) в стебле растений, выращенных из семян карельской березы, сопровождается снижением в стебле и корнях уровня экспрессии гена *BpSUC1* (*sucrose transporter 1*) и возрастанием уровня транскрипции генов *BpHEX1* и *BpHEX2* (*hexose transporter 1, 2*), что также свидетельствует о накоплении гексоз в акцепторных тканях растений карельской березы и о смещении метаболизма сахарозы в сторону апопластного усвоения.

Таким образом, на основе полученных данных можно предположить, что изменение в акцепторных тканях активности СС представляет собой один из эффективных путей регуляции ксилогенеза древесных растений.

Работа выполнена при финансовой поддержке из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания (№ гос. регистрации 0220-2014-0001) и грантов РФФИ № 16-04-01191\_a, № 16-04-100639\_p\_a.

## Оценка генетической variability регенерантов редких и эндемичных видов рода *Fritillaria* L. с помощью ISSR-анализа

Мурасева Д.С., Нуждина Н.С., Новикова Т.И.

Центральный сибирский ботанический сад СО РАН Новосибирск, Россия  
[dsmuraseva@csbg.nsc.ru](mailto:dsmuraseva@csbg.nsc.ru)

Сохранение растений в коллекциях ботанических садов является эффективным способом охраны *ex situ* редких и исчезающих таксонов природной флоры. В этой связи особенно актуальны биотехнологические приемы сохранения биологического разнообразия, а именно создание и поддержание коллекции культур *in vitro* редких и ценных таксонов. Важным аспектом хранения коллекций *in vitro* является контроль генетической стабильности регенерантов. Для этого используют различные молекулярно-генетические методы, среди которых наиболее распространен ISSR-анализ.

Род *Fritillaria* L. (*Liliaceae*) – рябчик представлен луковичными эфемероидами и насчитывает более 150 видов, произрастающих в Северном полушарии, при этом районами наибольшего видового разнообразия являются Западная и Центральная Азия. На территории России произрастает 12 видов рябчиков, 5 из которых занесены в Красную книгу РФ (2008) со статусом редкого вида.

Цель работы — оптимизировать системы регенерации *in vitro* редких и эндемичных видов рода *Fritillaria* и провести оценку генетической variability регенерантов.

Объектами исследования послужили редкие и эндемичные представители рода: *Fritillaria dagana* Turcz. ex Trautv., *F. meleagris* L., *F. ruthenica* Wikstr. Культивировали микрорастения на агаризованных питательных средах по прописи В5 и BDS, дополненных регуляторами роста (БАП, ТДЗ, НУК, ИУК) в концентрации 0,1-10,0 мкМ. Культивирование проводили в условиях свето-культуральной комнаты при двух режимах: активный рост — освещенность 3,5–4,0 клк, +23±2 °С, замедленный рост — освещенность 1,5–3,0 клк, +7 °С (световой термостат RuMed, Германия), фотопериод в обоих случаях — 16 ч свет, 8 ч темнота. Для выявления генетической variability регенерантов использовали ISSR-анализ.

Экстрагировали ДНК с помощью набора для выделения ДНК из пищевых продуктов и сырья (BioSilica, Россия). В исследовании испытано двенадцать ISSR-праймеров. Концентрацию ДНК определяли на спектрофотометре BioSpectrometer kinetic (Eppendorf, Германия), используя микрокювету  $\mu$ Cuvette G1.0 (Eppendorf, Германия). Реакционная ПЦР-смесь объемом 25 мкл содержала 2,7 мМ MgCl<sub>2</sub>, 1,25 мМ праймера, 0,4 мМ мононуклеотидов, 1х PCR-буфер, 1,5 ед. Таq ДНК-полимеразы (Медиген, Россия), и 5 нг/мкл ДНК. Программа амплификации состояла из следующих этапов: денатурация ДНК — 1.30 мин при 94 °С; 35 циклов амплификации — 0.40 мин при 94 °С; отжиг праймера — 0.45 мин при 42-51 °С и 1.30 мин при 72 °С; заключительный этап пролонгирования нуклеотидной цепи — 5 мин при 72 °С. ПЦР проводили в C 1000 Thermal Cycler (BioRad Laboratories, США). Полученные ISSR-фрагменты окрашивали SYBR-Green (Медиген, Россия). Продукты амплификации разделяли путём электрофореза в 1,5% агарозном геле в 1х TBE-буфере. Размер ISSR-фрагмента определяли по молекулярному маркеру массы (Медиген, Россия).

В предыдущих исследованиях нами успешно введены в культуру *in vitro* растения исследуемых видов с использованием в качестве первичных эксплантов сегментов луковичных чешуй. Выявлены наиболее эффективные концентрации и комбинации экзогенных регуляторов роста растений. Общей закономерностью являлась высокая эффективность комбинации БАП и НУК с преобладанием цитокинина. Исключение составляли микрорастения *F. dagana*, проявившие большой регенерационный потенциал на среде дополненной только 0,1 мкМ БАП. Культивирование при пониженной температуре и освещенности (условия замедленного роста) на питательных средах с уменьшенным в два раза содержанием макро- и микрокомпонентов и дополненным активированным углем позволило успешно снизить вегетативную активность микрорастений и увеличить длительность пассажа до 8 месяцев и более.

Из двенадцати испытанных ISSR-праймеров только для пяти была характерна репрезентативность ISSR-паттерна и наиболее высокий полиморфизм амплифицированных фрагментов. В результате ISSR-ПЦР-амплификации матриц ДНК получили амплифицированные фрагменты длиной от 200 до 1800 п.н. При анализе матриц доказана генетическая идентичность материнских растений и регенерантов пяти поколений, сформированных в ходе прямого органогенеза.

В результате оптимизации систем регенерации получены микрорастения исследуемых видов *Fritillaria* и доказана генетическая стабильность регенерантов, полученных при прямом органогенезе из тканей луковичных чешуй.

## Характер распределения погруженных сидячих желёзок у растений *Origanum vulgare* L. в связи с эфиромасличностью

Мягих Е.Ф., Давыдова А.В. \*, Ведерникова К.В. \*

ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма», г. Симферополь, Крым, Россия  
\*Медицинская академия имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского», г. Симферополь,  
Крым, Россия  
[origanum.science@mail.ru](mailto:origanum.science@mail.ru)

Душица обыкновенная (*Origanum vulgare* L.) – ценный эфиромасличный и лекарственный вид растений. 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, размерами и плотностью локализации на органах растений. Нами установлено, что железистый аппарат исследованных образцов *O. vulgare* представлен специализированными экзогенными структурами: погружёнными сидячими железками с 12-клеточной головкой (в дальнейшем для удобства изложения – «сидячие железки») и сидячими железками с 1-клеточной головкой. Целью исследования являлось изучение размеров и плотности распределения погруженных сидячих желёзок с 12-клеточной головкой на листьях, чашечке и прицветниках различающихся по масличности образцов *O. vulgare*.

Особенности железистого аппарата *O. vulgare* изучены на примере трёх образцов: средне- (№ г31 с массовой долей эфирного масла 0,35% от сырой массы или 0,96% от абсолютно сухой массы) и высокомасличных (№ г163 с массовой долей эфирного масла 0,75% от сырой массы или 1,77% от абсолютно сухой массы) гибридных образцов и сорта Украиночка, отличающегося низкой массовой долей эфирного масла в сырье – 0,10 % от сырой массы или 0,25% от абсолютно сухой массы. Изученные растения выращены в научном севообороте ФГБУН «НИИСХ Крыма» в с. Крымская Роза Белогорского района Республики Крым. Отбор проб для проведения биохимических анализов и фиксации материала для анатомических исследований проведен в фазу массового цветения растений душицы обыкновенной второго года вегетации (2015 г). Для анализа железистого аппарата растительный материал фиксировали в «уксусном спирте» (фиксатор Кларка). Подсчет плотности проводили под микроскопом Биолам–Д11У (15×8) с помощью окулярной сетки ( $S=0,64 \text{ мм}^2$ ) в 30 полях зрения с последующим пересчётом на  $1 \text{ мм}^2$ . Измерение диаметра железок проводили с помощью окулярной линейки.

Выявлено, что сидячие железки сорта Украиночка достигали  $0,70 \pm 0,02 \text{ мкм}$  в диаметре, а диаметр желёзок гибридных образцов г31 и г163 достоверно не различался и составил  $0,83 \pm 0,02 \text{ мкм}$  и  $0,85 \pm 0,02 \text{ мкм}$  соответственно. Следует отметить, размерные параметры железистых структур были константными и не изменялись в зависимости от места их локализации в растении. По-видимому, этот признак генетически закреплён и не зависит от места расположения секреторных структур.

Нами изучена плотность распределения сидячих железок на различных органах (чашечка, прицветник, лист) растений душицы обыкновенной.

Выявлено, что исследованные образцы отличаются по количеству указанных структур на органах.

Так как соцветие у растений душицы сложное, представленное совокупностью флоральных единиц – открытых колосьев, состоящих из цветков с прицветниками, то исследовали железистые образования на чашечке и прицветниках.

При исследовании чашечек установлено, что сидячие железки преимущественно располагаются на адаксиальной (нижней, внешней) стороне органа, их количество варьирует от  $9,6 \pm 1,7 \text{ штук/мм}^2$  у сорта Украиночка до  $37,1 \pm 1,5 \text{ штук/мм}^2$  у гибрида №г163. На адаксиальной (внутренней, верхней) стороне сидячие железки встречаются единично и только у гибридных образцов.

Изучение особенностей секреторного аппарата прицветников исследуемых образцов показало, что у исследованных образцов душицы обыкновенной на прицветниках железистые образования присутствуют исключительно на абаксиальной стороне. Их количество невысоко от  $0,2 \pm 0,1 \text{ штук/мм}^2$  у сорта Украиночка до  $2,3 \pm 0,4$  и  $3,1 \pm 0,5 \text{ штук/мм}^2$  у гибридных образцов г 31 и г163 соответственно.

Секреторный аппарат листовой пластинки *O. vulgare* у изученных образцов имел следующие отличия. Наиболее масличный образец №г163 характеризовался наличием на листьях наибольшего числа сидячих желёзок ( $15,3 \pm 0,3 \text{ штук/мм}^2$ ), расположенных практически в равном количестве как на абаксиальной ( $7,0 \pm 0,3 \text{ штук/мм}^2$ ), так и на адаксиальной ( $8,3 \pm 0,4 \text{ штук/мм}^2$ ) стороне листа. У образца № г31 количество железистых структур на 7,4 % меньше по сравнению с высокомасличным образцом ( $14,2 \pm 0,3 \text{ штук/мм}^2$ ). При этом большее количество сосредоточено на нижней стороне листа –  $11,8 \pm 0,3 \text{ штук/мм}^2$ . Для низкомасличного образца (сорт Украиночка) характерно низкое число железистых структур на листьях –  $4,1 \pm 0,2 \text{ штук/мм}^2$ , что на 73,1% меньше, чем у высокомасличного образца №г163. Распределение сидячих желёзок на верхней и нижней сторонах листовой пластинки растений сорта Украиночка было одинаковым: от  $2,1 \pm 0,3 \text{ штук/мм}^2$  на адаксиальной до  $2,0 \pm 0,2 \text{ штук/мм}^2$  на абаксиальной стороне листа.



## Влияние крезацина на фотохимическую активность хлоропластов и продуктивность фотосинтеза растений овощного амаранта

Назарова Г.Н., Кириллова Л.Л. \*, Пешкова А.М. \*, Иванова Е.П.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН. Институтская ул., 2, Пущино Московской обл., Россия

\*Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого. Ленина пр., 125, Тула, Россия

[nazgal@mail.ru](mailto:nazgal@mail.ru)

Впервые исследовано влияние стимулятора Крезацина (трис (2-оксиэтил) аммоний-о-крезоксиацетат) – на ростовые параметры растений овощного амаранта *Amaranthus caudatus* L. сортообразец K173 (K173), на светозависимые процессы фотосинтеза и некоторые параметры ассимиляции азота.

Препарат, синтезированный в 70-х годах прошлого века иркутскими учеными под руководством М.Г. Воронкова, экологически безопасный, безвредный для человека и животных, оказывает значительное стимулирующее действие на растения, сходное с действием ауксинов и гиббереллинов. При этом он подвергается естественной деградации в почве с образованием в конечном итоге воды и углекислого газа. Крезацин повышает всхожесть семян, урожай ряда культур в любых климатических условиях, устойчивость растений к неблагоприятным условиям среды; применяется для активного корнеобразования и усиления иммунитета растений. В России он успешно используется при культивировании пшеницы, ячменя, овса, риса, картофеля, огурцов, томатов, кукурузы, винограда, табака, розы, можжевельника и др. Амарант в этом перечне отсутствует. Овощной амарант очень популярен во многих странах мира и считается ценной пищевой культурой, однако в России недостаточно распространен из-за ряда физиологических особенностей, осложняющих его культивирование.

Целью данной работы было изучение действия Крезацина на семена овощного амаранта и выращенные из них растения, что позволило бы оценить возможность применения этого препарата при культивировании амаранта в средней полосе России.

В работе использовали семена овощной формы амаранта *Amaranthus caudatus* L. сортообразец K173 (K173), полученные из Всероссийского НИИ селекции и семеноводства овощных культур (Московская обл.) и препарат Крезацин в виде кристаллического порошка отечественного производства (ООО "Флора-Си", Россия).

Впервые показано влияние предпосевной обработки водными растворами Крезацина на всхожесть семян овощного амаранта, исследованного сортообразца. Максимальный стимулирующий эффект обнаружен при концентрации  $10^{-7}$  М, когда всхожесть повышалась с  $70 \pm 3\%$  до  $95 \pm 4\%$ , а при  $10^{-5}$  М – наблюдался сильный ингибирующий эффект – всхожесть падала до  $48 \pm 3\%$ . При прочих концентрациях препарата достоверный эффект отсутствовал. Из семян, обработанных  $10^{-7}$  М раствором Крезацина выращивали растения для изучения ростовых и биохимических показателей.

Предпосевная обработка семян  $10^{-7}$  М раствором Крезацина стимулировала накопление биомассы растений на протяжении всей вегетации, при этом уровень стимулирования был связан с фазами онтогенеза. Так, 15-ти и 30-ти суточные проростки, находящиеся на стадии скрытого роста, значительно – на  $62 \pm 5\%$  и  $100 \pm 7\%$ , соответственно, превосходили по массе контрольные растения. Высота проростков была на уровне контроля, в результате чего их габитус был более крепким. В то же время наблюдалось ускорение роста главного корня 15-суточных проростков на  $59 \pm 8\%$ , по сравнению с контролем. В более поздние сроки в зависимости от фазы онтогенеза сырая масса растений составляла от 130% до 200% к контролю.

В листьях 45-суточных растений овощного амаранта измеряли содержание хлорофилла и фотохимическую активность хлоропластов. Скорость транспорта электронов в электрон-транспортной цепи хлоропластов повышалась на  $34,9 \pm 6,1\%$ , а скорость фотосинтетического фосфорилирования – на  $64,7 \pm 4,5\%$ , по сравнению с контролем. Содержание хлорофилла в листьях при этом изменялось незначительно. В результате такого стимулирования работы фотосинтетического аппарата чистая продуктивность фотосинтеза листьев растений, выращенных из обработанных семян, вычисленная у 45-60 суточных растений, превышала контроль на  $26 \pm 6\%$ .

Измерение показателей системы ассимиляции азота на стадии вегетации растений амаранта, прошедших предпосевную обработку Крезацином, показало, что в листьях 15-45 суточных растений значительно возросла активность нитратредуктазы – до  $158 \pm 7\%$ , уровень нитрита колебался в процессе роста растений, а содержание общего белка в листьях превышало контроль в среднем на 20-30% на протяжении всех 45 суток.

Таким образом, Крезацин положительно влияет на ряд физиологических и физиолого-биохимических параметров растений овощного амаранта K173 и может быть использован с целью улучшения качества посевного материала, повышения питательности и продуктивности биомассы, а также с целью облегчения интродукции овощного амаранта на территории России.

## Рамногалактуронанлиазы флоэмных волокон льна-долгунца

Назипова А.Р., Мокшина Н.Е., Горшков О.В., Горшкова Т.А.

Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН, Лобачевского 2/31, Казань, Россия  
[nazipova\\_alsu@mail.ru](mailto:nazipova_alsu@mail.ru)

Лен-долгунец (*Linum usitatissimum* L.) возделывается со времен раннего голоцена (8000 лет до н.э.). В основном его волокна используются для производства текстильных материалов и композитов различного назначения. Интерес к этой культуре, начавший было угасать на фоне повсеместного распространения синтетических волокон, в XXI веке обрел новую жизнь благодаря стремлению человечества к повышению экологичности как самих предметов повседневного использования, так и технологий их производства. В то же время молекулярные механизмы формирования льняных волокон остаются не до конца изученными.

Для получения представления о наборе генов, экспрессия которых определяет переход флоэмных волокон льна-долгунца от одной стадии развития к другой, с применением платформы Illumina MiSeq были проанализированы транскриптомы двух участков стеблей льна, обогащенных волокнами на разных этапах онтогенеза. Верхняя часть стебля над так называемой точкой слома состоит из клеток в основном обладающих первичной клеточной стенкой и содержит в том числе интрузивно растущие волокна (Ageeva et al., 2005). Стебель под точкой слома вручную может быть разделен на ксилему и флоэму, в которой находятся волокна, приступившие к утолщению клеточной стенки (формированию третичной клеточной стенки). Их сравнительно легко очистить от окружающих тканей, слегка растерев со спиртом в ступке (Mokshina et al., 2014).

При сопоставлении транскриптомов двух образцов, волокна в которых растут интрузивно или наращивают третичную клеточную стенку, было обнаружено 156 генов, число транскриптов которых было достоверно выше (cut-off  $\log_2FC > 2$ ,  $q < 0.05$ ) во втором образце. В основном пул этих генов был сформирован последовательностями, кодирующими ферменты метаболизма клеточных стенок, ионные транспортеры, транскрипционные факторы и другие регуляторные белки. В число дифференциально экспрессирующихся генов попали два, последовательности которых позволяют отнести кодируемые белки к рамногалактуронанлиазам (*Lus10004281* и *Lus10019231*). Результат был верифицирован с помощью RT-PCR.

Рамногалактуронанлиазы (КФ 4.2.2.23) расщепляют рамногалактуронан I – компонент пектиновых веществ, специфическая структура которого в третичной клеточной стенке волокон льна-долгунца во многом определяет наличие у последних контрактильных свойства (Mikshina et al., 2013). Эти ферменты катализируют негидролитический разрыв  $\alpha$ -(1→4) гликозидной связи между рамнопиранозой и галактопиранозилуроновою кислотой по механизму  $\beta$ -элиминирования с формированием олигомеров, содержащих  $\alpha$ - $\Delta$ -4,5-ненасыщенную галактопиранозилуроновою кислоту на невозстанавливаемом конце. Механизм каталитического действия и трехмерные структуры рамногалактуронанлиаз были описаны в результате исследований, проведенных на грибных ферментах. В то же время десятилетия попыток обнаружить рамногалактуронанлиазную активность в растениях остались почти бесплодными.

Некоторые белки растений, на основании гомологии последовательностей относимые к числу ферментов углеводного обмена, лишены соответствующей активности. Как правило, вследствие замены ключевых для катализа аминокислотных остатков другими (Козлова и др., 2017). Было проведено выравнивание аминокислотных последовательностей нескольких растительных рамногалактуронанлиаз с бактериальными и грибными ферментами, принадлежащими к тому же семейству полисахаридлиаз. Каталитические остатки лизина и гистидина, непосредственно задействованные в катализе, были строго консервативны во всех последовательностях. В то же время был выявлен ряд замен аминокислотных остатков, которые участвуют в связывании субстрата активными рамногалактуронанлиазами. Это может быть как оптимизацией формы для большего соответствия конкретному субстрату, так и помехой для катализа. Доменная организация предполагаемой рамногалактуронанлиазы льна аналогична таковой у каталитически активной рамногалактуронанлиазы *Aspergillus aculeatus*, что было показано с помощью компьютерного моделирования. Тем не менее, отсутствие данных о наличии рамногалактуронанлиазной активности в волокнах льна, древесине напряжения тополя и цветоложе клубники – объектах, характеризующихся высокой экспрессией генов предполагаемых рамногалактуронанлиаз, – заставляет задуматься о возможности выполнения этими белками каких-то иных, не ферментативных функций.

Исследования проведены при частичной финансовой поддержке грантов президента Российской Федерации (МК-8014.2016.4 и МК-2584.2017.4).

Ageeva MV, Petrovska B, Kieft H, Salnikov VV, Snegireva AV, van Dam JE, van Veenendaal WL, Emons AM, Gorshkova TA, van Lammeren AA. *Planta*. 2005. 222:565.

Mokshina N, Gorshkova T, Deyholos MK. *PLoS ONE*. 2014. 9:e97949.

Mikshina PV, Chernova TE, Chemikosova SB, Ibragimova NN, Mokshina NY, Gorshkova TA. *Cellulose*. 2013. Chapter 4. 91.

Козлова ЛВ, Мокшина НЕ, Назипова АР, Горшкова ТА. *Физиология растений*. 2017. в печати.

## Фотофизические свойства хлорофиллов в комплексах фотосистемы 2 высших растений: влияние структуры и редокс-состояния кофакторов

*Неверов К.В.*

Институт биохимии им А.Н.Баха, ФИЦ Биотехнологии РАН, Ленинский проспект, 33, Москва, Россия  
[neverovk@mail.ru](mailto:neverovk@mail.ru)

Устойчивость фотосинтетических пигмент-белковых комплексов, в особенности – фотосистемы 2 (ФС 2) к действию сильного света определяется эффективностью преобразования энергии и транспорта электрона между кофакторами: каротиноидами, хлорофиллами (Хл), феофитинами (Фео), хинонами и другими молекулами. Фотоингибирование ФС2 инициируется, как считается, образующимися при дисбалансе потока электронов катион-радикалом первичного донора электрона, димером Хл «а» Р680, и/или триплетным хлорофиллом, возникающим при рекомбинации ион-радикальной пары  $P680^+Feo^-$ .

Целью работы было изучение механизмов фотоиндуцированной генерации триплетно-возбуждённого Хл в препаратах ФС 2 методами люминесцентного анализа (измерением низкотемпературной фосфоресценции и флуоресценции) и инфракрасной спектроскопии с Фурье-преобразованием (FTIR). В качестве объектов были использованы как реакционные центры (РЦ) фотосистемы 2 - минимизированные структуры, способные к фотохимическому разделению зарядов между Р680 и феофитином ( $P680Feo \rightarrow P680^+Feo^-$ ), так и более крупные фрагменты - кор-комплексы ФС 2, содержащие хинонные акцепторы и способные к фотовыделению кислорода.

В результате были получены спектры фосфоресценции и флуоресценции Хл «а» в препаратах РЦ и кор-комплексов ФС 2 с полностью восстановленным хинонным акцептором  $Q_A$ . Фосфоресценция триплетного состояния Хл имела сходные параметры в обоих типах препаратов: максимум при 952-955 нм, полуширину 21,5 нм и время жизни 1.5-1.6 мс. Относительный квантовый выход фосфоресценции Хл в РЦ соответствовал значению, полученному ранее для мономерного Хл «а» в растворах, тогда как в препаратах кор-комплексов ФС 2 с восстановленным  $Q_A$  квантовый выход падал более, чем в 10 раз.

Как фосфоресценция, так и флуоресценция Хл в препаратах ФС 2 оказалась очень чувствительна к редокс-состоянию кофакторов цепи переноса электрона. Сильное падение фосфоресценции наблюдалось в препаратах РЦ с искусственным акцептором электрона силикомолибдатом, вызывающим фотонакопление состояния  $P680^+Feo^-$ , в присутствии дитионита, вызывающего фотонакопление восстановленного состояния  $P680Feo^-$ , а также в кор-комплексах ФС 2 с окисленным  $Q_A$ . Эти данные, вместе с обнаруженным изменением соотношения полос Хл и Фео в спектрах возбуждения флуоресценции препаратов РЦ в окисленном ( $P680^+Feo^-$ ) и восстановленном ( $P680Feo^-$ ) состояниях указывают на рекомбинационный характер как фосфоресценции, так и флуоресценции.

Методом инфракрасной спектроскопии с Фурье-преобразованием были получены фотоиндуцированные разностные спектры в РЦ и кор-комплексах ФС 2, подтверждающие, что триплетное состояние Хл заселяется в результате рекомбинации зарядов в фотоиндуцированной ион-радикальной паре  $P680^+Feo_{D1}^-$ .

Таким образом, нами впервые показана общность механизма образования триплетно-возбуждённого Хл в комплексах ФС 2 разного уровня организации, хотя в кор-комплексах была обнаружена фотогенерация триплета Хл другого, конверсионного типа. Структура спектров испускания указывает на то, что эмиттером как фосфоресценции, так и флуоресценции является не Р680, а мономерный вспомогательный  $Хл_{D1}$  в активной ветви кофакторов РЦ. Полученные данные представляют интерес для понимания физико-химических механизмов формирования примитивных энергопреобразующих структур на разных этапах эволюции фотосинтеза.

## Устойчивость сортов винограда различного эколого-географического происхождения к высокотемпературному стрессу

*Ненько Н.И., Ильина И.А., Киселева Г.К., Сундырева М.А., Схаляхо Т.В.*

Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства. 40 лет Победы  
ул. 39, Краснодар, Россия  
[nenko.nataliya@yandex.ru](mailto:nenko.nataliya@yandex.ru)

В связи с потеплением климата, изменением гидротермических условий в регионах несомненный интерес представляет изучение жаростойкости растений, в том числе винограда. Исследования проводились на базе ампелографической коллекции г. Анапа. Объектами исследований являлись сорта винограда евро-американского происхождения Достойный и Красностоп АЗОС среднего срока созревания, и сорт Кристалл амуро-евро-американского происхождения раннего срока созревания. Растения винограда одного 1995 года посадки, подвой Кобер 5ББ. Формировка – двусторонний высокоштабный спиральный кордон АЗОС. За период 2014-2016 гг. в условиях лета на территории анапо-таманской зоны отмечалось постепенное снижение количества выпавших осадков в июне на 72,3 %, в июле – на 83,3 %, а в августе 2014 – 2015 гг. отмечалась засуха, при этом максимальная температура воздуха в июне повысилась на 7°C, в июле – на 7°C и в августе – на 4°C, соответственно. За анализируемый период в 2016 г. в сравнении с 2014 г. оводненность листьев у изучаемых сортов в июне снизилась на 0,6 – 2 %, в июле - на 0,68 – 1,85 % и в августе - на 4,39 – 11,37 %. При этом оводненность листьев изучаемых сортов винограда в большей степени коррелировала с минимальной температурой воздуха (Ккоррел = 0,6 – 0,9). В условиях засухи в июле в сравнении с июнем отношения содержания связанной воды к свободной в листьях изучаемых сортов винограда уменьшалось на 98 – 126 % наряду с увеличением содержания пролина (в 3,7- 5,7 раза), что характеризует его стресс-протекторные свойства. Увеличение содержания суммы свободных органических кислот в листьях винограда на 21,6 и 28,8 % у сортов Красностоп АЗОС и Достойный и в 4,9 раза- у сорта Кристалл в июле в условиях засухи 2015 и 2016 гг. указывает на активацию дыхания, а, следовательно, обменных процессов, что может быть связано с адаптацией изучаемых сортов к высокотемпературному стрессу и низкой влагообеспеченности. В августе 2015 г. и июле 2016 г. в сравнении с 2014 гг. отмечалось увеличение содержания хлорофилла (а + б) в листьях изучаемых сортов, что согласуется с большим содержанием каротиноидов, защищающих хлорофилл от разрушения, особенно у сорта Достойный, что позволяет предположить различные эффекты проявления их защитных свойств в отношении хлорофилла у разных по происхождению сортов. С водным обменом, фотосинтезом и дыханием тесно связана устьичная проводимость. Так сорт Достойный характеризовался меньшими размерами замыкающих клеток устьиц, чем сорт Кристалл, сорт Красностоп АЗОС занимал между ними промежуточное положение. Определение коэффициента повреждения мембран при воздействии высокотемпературного стресса в модельном опыте показало, что большей жаростойкостью обладает сорт Достойный и меньшей – сорт Кристалл. При этом величина коэффициента повреждения мембран прямо коррелирует с размером замыкающих клеток устьиц (Ккоррел.= 0,99). Установлено, что большая корреляция между содержанием связанной и свободной формами воды с содержанием пролина отмечается у сортов Кристалл и Красностоп АЗОС (Ккоррел = 0,86- 0,98) и меньшая – у сорта Достойный (Ккоррел = 0,26). У сорта Кристалл отмечалась большая корреляция между содержанием связанной и свободной воды с содержанием сахарозы (Ккоррел = 0,97), чем у сортов Достойный и Красностоп АЗОС (Ккоррел = 0,60 – 0,61). Следовательно, устойчивость сортов Кристалл и Красностоп АЗОС к стрессовым условиям летнего периода зависит не только от содержания пролина, но и сахарозы, а у сорта Достойный – преимущественно сахарозы. Сорт евро-амуро-американского происхождения Кристалл менее устойчив к высокотемпературному стрессу, чем сорта Достойный и Красностоп АЗОС евро-американского происхождения.

## Изучение жирнокислотного состава липидных рафтов выделенных из мембран клеточных органелл галофитов

Нестеркина И.С., Нестеров В.Н.\*, Богданова Е.С.\*, Озолина Н.В., Розенцвейт О.А.\*, Спиридонова Е.В.

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, ул. Лермонтова, 132, Иркутск, Россия

\*Институт Экологии Волжского бассейна РАН, ул. Комзина, 10, Тольятти, Россия

[nirinka24@mail.ru](mailto:nirinka24@mail.ru)

Современной мембранологией принято, что в биологической мембране существуют «островки» липидупорядоченной фазы, обозначаемые как липидные рафты, в пределах которых молекулы упакованы плотнее, чем в окружающей мембране. Рафты определяются как динамичные, обогащенные стеролами и сфинголипидами, упорядоченные области мембран со специфичными белками, которые могут объединяться за счет липид-липидных, белок-липидных, белок-белковых взаимодействий. В физиологических условиях рафты могут участвовать в регуляции клеточных процессов. При слиянии рафтов создаются сигнальные платформы, на территории которых становится возможным взаимодействие сигнальных молекул и запуск сигнальных каскадов. В целом, изучение мембранных рафтов представляет собой новое направление, развитие которого необходимо для детального понимания физиологии клетки. На мембранах хлоропластов и митохондрий протекают важные энергетические процессы, от стабильности которых зависит жизнедеятельность растительной клетки. Известно что, клетка реагирует на воздействие окружающих факторов среды (изменение температуры, освещенности, недостаток влаги, засоления), изменением жирнокислотного (ЖК) состава мембранных липидов, что влияет на структурную организацию мембран. В связи с этим, целью работы было обнаружение мембранных рафтов в клеточных органеллах и изучение состава жирных кислот их липидов на примере растений-галофитов, отличающихся по типу соленакопления.

Объектом исследования были выбраны дикорастущие галофиты соленакапливающего типа – *Salicornia perennans* Willd., *Halocnemum strobilaceum* Bieb., и соленепроницаемого типа – *Artemisia santonica* L., собранные в районе соленого оз. Эльтон (Волгоградская область) в июне 2016 г. Климатические условия территории характеризуются резким недостатком влаги, сильной засушливостью в вегетационный период, засоленностью почвогрунтов. Отобранный в полевых условиях растительный материал – листья галофитов замораживали в жидком азоте и хранили вплоть до начала анализов. Выделение клеточных фракций хлоропластов и митохондрий осуществляли методом дифференциального центрифугирования. Выделение рафтов проводили по методике, разработанной на базе Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН в лаборатории Физиологии растительной клетки. Состав жирных кислот анализировали при помощи газожидкостной хроматографии в изотермическом режиме на капиллярной колонке Rtx T-2330 с использованием хроматографа Crystal-5000.1.

На первом этапе работы нами было доказано присутствие липидных рафтов в мембранах митохондрий и хлоропластов исследуемых растений по таким характерным признакам как наличие зоны опалесценции и высокое содержанием стероидов и цереброзидов в липидах этой зоны. Еще одним ключевым доказательством рафтов является высокое содержание в их липидной составляющей насыщенных жирных кислот. На следующем этапе работы мы провели анализ жирнокислотного состава липидов полученных из микрооменов. В результате было показано, что доля насыщенных ЖК в рафтах хлоропластов всех исследуемых растений составляла от 56 до 62 %, тогда как в самой фракции хлоропластов доля насыщенных ЖК составляла от 25 до 45 % от суммы ЖК, т.е. степень насыщенности липидов отличалась практически вдвое. Та же тенденция наблюдалась и в рафтах митохондрий всех исследуемых растений – доля насыщенных ЖК составляла от 60 до 73%, в то время как в самой фракции, из которой получали рафты, доля насыщенных ЖК составляла от 32 до 37%.

Поскольку в рафтах, по сравнению с фракциями, из которых они были получены, увеличивалось содержание всех насыщенных ЖК, то соответственно снижалось содержание ненасыщенных ЖК, особенно С18:3 с 30% до следовых количеств. Ещё одной особенностью было то, что в рафтах мембран обеих органелл всех исследуемых растений присутствуют моноеновые ЖК (10–16%), такие как С14:1, С15:1, С 16:1, С 17:1, которые во фракциях хлоропластов и митохондрий обнаружены только в следовых количествах. Так же в структуре липидов рафтов всех исследуемых растений происходило увеличение относительного содержания С18:1 с 3% до 24%.

Таким образом, в результате проведенной работы можно сделать вывод, что из фракции митохондрий и хлоропластов всех видов исследуемых галофитов были выделены именно липидные рафты. Детальное исследование жирнокислотного состава полученных рафтов, позволило нам это доказать. Кроме этого было отмечено присутствие моноеновых жирных кислот в рафтах, некоторые из них отсутствуют в мембранной фракции, из которой были выделены рафты.

## Влияют ли оксibenзойные кислоты на морфологию клеток *Camellia sinensis* L. в условиях *in vitro*?

Нечаева Т.Л., Воронков А.С., Загоскина Н.В.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН. Ботаническая ул., 35, Москва, Россия  
[NechaevaTatyana.07@yandex.ru](mailto:NechaevaTatyana.07@yandex.ru)

Фенольные соединения (ФС) являются одними из наиболее распространенных вторичных метаболитов высших растений, обладающих высокой биологической активностью. К настоящему времени выявлено больше 10 000 их представителей. К наиболее биогенетически ранним ФС относятся оксibenзойные кислоты, образование которых характерно для многих покрытосеменных растений. Одним из активно изучаемых их представителей является салициловая кислота (СК), которой отводится важная роль в системе защитных реакций, включая действие патогенов, засоления, низких и высоких температур, повышенного содержания в почве тяжелых металлов и др. К числу структурных аналогов СК относится *n*-оксibenзойная кислота (ОК), о функциональной роли которой известно крайне мало.

Целью работы являлось сравнение экзогенного действия СК и ОК на морфологические параметры культивируемых в условиях *in vitro* клеток чайного растения.

Каллусную культуру стебля чайного растения (*Camellia sinensis* L., грузинская разновидность) выращивали на модифицированной питательной среде Хеллера, содержащей глюкозу (25 г/л) и 2,4-Д (5 мг/л) при 25° С в темноте. В опытных вариантах в среду добавляли СК или ОК ( $1 \times 10^{-5}$  М). Для изучения действия оксibenзойных кислот использовали каллусы 20-дневного возраста (середина линейной фазы роста), культивируемые на этих средах и анализируемые через 24 и 168 час после воздействия. Морфологию клеток изучали на световом микроскопе AxioImager D1 Carl Zeiss (Германия), используя срезы, полученные из срединной части каллусов на микротоме с вибрирующим лезвием Tergo Scientific Microm HM 650 V (Германия). Для статистической обработки данных использовали программу Excel.

Каллусные культуры чайного растения, состояли из паренхимных клеток разного размера, среди которых встречались единичные трахеидальные элементы. Средняя площадь клетки контрольного варианта составляла 1772 мкм<sup>2</sup>. При этом площадь (S) крупных клеток в 15 раз превышала таковую мелких. Это свидетельствует о значительной вакуолизации длительно выращиваемой в условиях *in vitro* культуры чая. Для каллусов, подвергнутых воздействию СК, отмечено уменьшение средней S клетки по сравнению с контролем на 18%. При этом S крупных клеток уменьшалась, а S мелких - увеличивалась (на 24% и 50%, соответственно). В варианте с действием ОК – тенденция была иной, а именно, средняя S клетки была выше по сравнению с другими вариантами, также как S больших и маленьких клеток. Однако более длительное воздействие СК и ОК (168 час) привело к уменьшению S разных по размеру клеток, что в большей степени отмечалось в варианте с ОК (64% и 75% соответственно) на фоне увеличения размеров клеток контроля.

Все вышеизложенное свидетельствует о том, что воздействие оксibenзойных кислот приводит к изменениям в морфологических характеристиках клеток каллусных культур чайного растения, что проявляется как в изменении их средней S, так и S больших и маленьких клеток. Этот эффект зависит от структуры действующего соединения, а также длительности воздействия.

## Древесные растения, произрастающие на разных по уровню плодородия почвах, отличаются по активности ферментов АОС

Никерова К.М., Галибина Н.А., Мощенская Ю.Л., Новицкая Л.Л.

ФГБУН Институт леса Карельского научного центра РАН. Пушкинская ул., 11, Петрозаводск, Карелия, Россия  
[knikerova@yandex.ru](mailto:knikerova@yandex.ru)

Необходимым процессом в жизни древесного растения является ксилогенез – процесс формирования древесины – за счет фиксации углерода в составе структурных полимеров углеводной и фенольной природы в клеточных стенках древеснеющих тканей растений. Изучение ксилогенеза актуально, так как эффективное управление процессами образования древесины необходимо для повышения продуктивности древесных растений. Отметим, что одним из важных факторов, влияющих на существование древесного растения и процесс ксилогенеза, является почвенное плодородие.

У некоторых древесных растений процессы ксилогенеза протекают с отклонениями от нормы. Ярким представителем аномального ксилогенеза является карельская береза (*B. pendula* Roth var. *carelica* (Mercl.) Hämet-Ahti) – форма березы повислой, у которой в результате отклонений в деятельности камбия формируется аномальная по строению древесина, визуальную характеризующаяся наличием узора в местах крупных скоплений паренхимных клеток из-за нарушения дифференцировки проводящих элементов ксилемы и флоэмы. Карельская береза произрастает на почвах с недостаточным уровнем доступного азота, на богатых по содержанию подвижного азота почвах она не встречается.

В период активного камбиального роста у безузорчатых и узорчатых растений наблюдаются разные метаболические стратегии ферментов углеводного обмена и антиоксидантной системы (АОС). У безузорчатых растений сахароза расщепляется за счет высокой активности сахарозосинтазы (СС), которая отвечает за формирование клеточных стенок при формировании нормальной древесины. С увеличением степени узорчатости древесины происходит снижение активности СС. При этом сахароза начинает расщепляться апопластной инвертазой (АпИнв). Переключение на апопластный путь влечет за собой увеличение пероксидазной активности (ПОД). Высокая ПОД является следствием паренхиматизации тканей, что происходит при формировании узора. Более того, количественные значения активности ПОД демонстрируют прямую корреляцию со степенью проявления узора, что позволяет использовать ПОД для диагностики признака узорчатости. Учитывая ограниченный ареал существования карельской березы, возникает вопрос, как условия произрастания влияют на проявление признака узорчатости?

В посадках карельской березы у безузорчатых и узорчатых растений в период активного камбиального роста изучили активности ферментов СС, АпИнв и ферментов АОС (супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ), пероксидазы (ПОД)), также полифенолоксидазную активность (ПФО). Было выделено 10 участков, отличающихся по запасам подвижных форм N, P и K.

В большей степени изучаемые участки отличались по запасам подвижного азота. Доступность аммонийной формы азота определяется эффективностью микоризных процессов. Снижение доступного N происходило на фоне увеличения фосфора. Изменение P/N отношения в сторону увеличения приводит к угнетению микоризных процессов и сопровождается утилизацией нитратов.

У безузорчатых растений березы, не испытывающих недостатка в подвижном азоте, отмечали самую высокую активность СС в формирующихся тканях ксилемы. Снижение подвижного азота на фоне возрастания P/N сопровождалось снижением активности СС. При этом в камбиальной зоне растений возрастает активность ферментов АОС (каталазы, пероксидазы и полифенолоксидазы). У безузорчатых растений в формирующейся ксилеме обнаружена обратная корреляция между активностью СС и ПФО. Обсуждается возможность перестройки метаболических процессов у растений, произрастающих в условиях повышенного P/N отношения, с синтеза целлюлозы и гемицеллюлоз на синтез фенольных соединений и лигнина.

У узорчатых растений при увеличении P/N отношения, как и у безузорчатых растений, снижалась активность СС. При снижении подвижного азота в почве в формирующейся ксилеме карельской березы увеличивалась активность СОД, первого фермента АОС, который генерирует перекись водорода, необходимую для переориентации растений от нормального роста к процессам паренхиматизации. Активность СОД положительно коррелировала с АпИнв. Повышение активности АпИнв сопровождалось возрастанием в камбиальной зоне узорчатых растений ПОД, КАТ и ПФО. АпИнв предоставляет субстраты для работы ПОД и КАТ. У узорчатых растений КАТ и ПОД положительно коррелируют с ПФО приводя, вероятно, к большей жесткости вторичной клеточной стенки у карельской березы и более интенсивной ее лигнификации.

Таким образом, безузорчатые и узорчатые растения карельской березы, произрастающие на разных по уровню плодородия почвах, отличаются по активности ферментов АОС, что является следствием разных сценариев ксилогенеза у изучаемых форм.

## О лигнине лишайников

Николаева Т.Н., Лапшин П.В., Заварзина А.Г. \*, Загоскина Н.В.

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

\*Московский Государственный Университет им. М.В.Ломоносова, почвенный факультет  
[niktat2011@mail.ru](mailto:niktat2011@mail.ru)

Лишайники представляют собой симбиотическую ассоциацию фотосинтезирующего организма – фотобионта (водоросли и/ или цианобактерии) и гриба – микобионта. Наличие фотосинтезирующего партнера позволяет им заселять местообитания, практически полностью лишённые органического вещества. Важнейшей биосферной функцией лишайников считается их участие в первичном почвообразовании, а именно: в образовании мелкозема за счёт разрушения массивных горных пород путем физического (проникновения гиф микобионта) и химического (выделения органических кислот разной природы) воздействия и образовании гумуса (органического вещества почв) за счёт накопления на поверхности горных пород лишайниковых метаболитов и продуктов деструкции талломов. Гумус - это многокомпонентная система, обеспечивающая плодородие почв. Одной из самых важных составляющих гумуса являются гуминовые вещества, или гуминовые кислоты, а основными их структурными предшественниками являются фенольные соединения. Поскольку ранее существовало мнение, что лишайники не содержат лигнина – основного предшественника гуминовых веществ в почвах под древесной растительностью, считалось, что предшественниками этих веществ в почвах под лишайниками могут быть хитин и меланины, а также низкомолекулярные соединения фенольной и азотистой природы. Однако, в последнее время появились единичные сообщения о возможном наличии лигнина в лишайниках. Целью работы было определение содержания лигнина в лишайниках порядков *Peltigerales* и *Lecanorales*, доминирующих в растительном покрове тундр. В качестве объектов исследования использовали лишайники *Peltigera aphthosa* L. (порядок *Peltigerales*) и *Cladonia arbuscula* L. (порядок *Lecanorales*). Растительный материал был собран на Кольском полуострове и воздушно высушен. Определение содержания лигнина проводили по стандартной методике, принятой для высших растений, за исключением того, что дополнительно была включена экстракция образцов ацетоном, поскольку часть мономерных лишайниковых веществ фенольной природы растворимы только в ацетоне. Измельченные талломы последовательно экстрагировали смесью этанол-бензол (1:2), ацетоном и горячей водой, затем промывали этанолом и диэтиловым эфиром. Полученный таким образом свободный от экстрактивных веществ остаток подвергали гидролизу 0,5 н NaOH в течение 36-ти часов при температуре 80°C. Охлажденный гидролизат центрифугировали (1000 g, 10 мин) и в надосадочной жидкости спектрофотометрически (при 610 нм) определяли содержание лигнина по реакции с 2,6-дихлорхинонхлоримидом. Калибровочную кривую строили по феруловой кислоте. Наличие лигнина обнаружено в обоих видах лишайников, но в *Peltigera aphthosa* его количество в 8 раз превышало таковое в *Cladonia arbuscula*. Далее представляло интерес выяснить качественный состав гидролизатов лигнина. Методом тонкослойной хроматографии (пластинки, покрытые слоем 0,2 мм микрокристаллической целлюлозы, система растворителей 15% уксусная кислота) было установлено, что в гидролизатах лигнина обоих видов лишайников присутствует ванилиновая кислота. Эта кислота является одним из продуктов гидролиза лигнина высших растений. Полученные данные свидетельствуют о том, что в лишайниках могут образовываться лигниноподобные структуры, но не позволяют судить о степени их полимеризации. Лигнин высших растений представляет собой трехмерный полимер фенольной природы с высокой степенью полимеризации. Возможно, в клеточных стенках лишайников образуются лишь его олигомерные формы.



**Развитие окислительного стресса в листьях пшеницы под влиянием высоких температур*****Нилова И.А., Топчиева Л.В.***ФГБУН Институт биологии Карельского научного центра РАН, Пушкинская, 11 г, Петрозаводск, Россия  
[im-ira@mail.ru](mailto:im-ira@mail.ru)

Действие высоких температур на растения вызывают развитие в их клетках окислительного стресса, причиной которого служит накопление активных форм кислорода (АФК). Наиболее характерной защитной реакцией растений на повышение уровня АФК и развитие окислительного стресса выступает усиление активности антиоксидантной системы клеток, важным элементом которой является фермент супероксиддисмутаза (СОД). Однако литературные данные, касающиеся развития окислительного стресса и активизации антиоксидантной системы в клетках растений в условиях гипертермии пока не столь многочисленны и требуют пополнения. Исходя из этого, целью нашей работы стало исследование изменения генерации супероксидного анион-радикала, накопления малонового диальдегида (МДА), а также изучение динамики активности СОД в листьях проростков пшеницы при высокотемпературном воздействии разной интенсивности.

Исследования проводили с недельными проростками озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Московская 39, которые в течение 3 сут подвергали воздействию температур 37° и 43°С. Генерацию супероксидного анион-радикала в листьях проростков пшеницы определяли по образованию преципитата формазана, МДА и СОД оценивали спектрофотометрически.

Было установлено, что при температуре 37°С генерация супероксидного анион-радикала в листьях пшеницы происходит уже через 15 мин от начала воздействия, а затем через 1 ч она снижается. В то же время изменений в генерации супероксидного анион-радикала при температуре 43°С не обнаружено. Обе исследуемые температуры индуцировали накопление МДА через одни и двое суток от начала эксперимента, но увеличение содержания МДА под влиянием температуры 43°С оказалось значительно большим, чем при температуре 37°С. Показано также, что при действии на проростки пшеницы температуры 37°С активность СОД в их листьях достоверно возрастала, начиная со вторых суток эксперимента. В отличие от этого, при температуре 43°С активность СОД повышалась уже в первые минуты воздействия и достигала максимума на третьи сутки.

Обобщая полученные данные, можно заключить, что действие температур 37° и 43°С приводит к развитию в клетках проростков пшеницы окислительного стресса, однако характер этого процесса зависит от интенсивности действующей температуры. Так, в начальный момент действия температуры 37°С происходит усиление генерации супероксидного анион-радикала, который, вероятно, выполняет регуляторную функцию. В условиях пролонгированного действия этой температуры активизируется СОД, которая участвует в утилизации супероксидного анион-радикала, что приводит лишь к незначительному повышению содержания МДА к концу эксперимента. Напротив, более интенсивная по своему воздействию температура 43°С вызывает быстрое повышение активности СОД, что скорее всего и обеспечивает снижение уровня супероксидного анион-радикала, хотя при более длительном температурном воздействии содержание МДА многократно возрастает. Таким образом, с увеличением интенсивности высокотемпературного воздействия окислительный стресс в клетках проростков пшеницы усиливается, а эффективность защитных механизмов при этом снижается.

## Роль полярного транспорта ауксина в регуляции продуктивности древесных растений

Новицкая Л.Л., Галибина Н.А., Мощенская Ю.Л., Николаева Н.Н., Тарелкина Т.В., Никерова К.М.

Институт леса Карельского научного центра РАН. Ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Россия  
[novits@krc.karelia.ru](mailto:novits@krc.karelia.ru)

Древесина составляет до 80% биомассы дерева, поэтому ксилогенез (процесс формирования древесины – ксилемы), играет ключевую роль в повышении продуктивности древесного растения. Роль ксилогенеза в продуктивности дерева обусловлена также тем, что по древесине осуществляется транспорт воды и минеральных веществ. Вода движется по трахеидам (голосеменные) и сосудам (двудольные) ксилемы. Для проведения воды основное значение имеют линейные размеры сосудов и их количество на единицу площади поперечного сечения ствола. Крупные сосуды намного эффективнее мелких, успешное выполнение функции также зависит от упорядоченного расположения и вертикальной ориентации сосудов.

Объектами нашего исследования были две формы березы повислой – обычная береза повислая (ОБ, *Betula pendula* var. *pendula*) с нормальной по строению древесиной и карельская береза (КБ, *B. pendula* var. *carelica*) с аномальной узорчатой древесиной ствола. В зонах структурных аномалий древесины КБ нарушается пространственная ориентация сосудов, резко сокращается их число, длина и диаметр. Все это сопровождается сильным уменьшением прироста древесины на фоне возрастания толщины коры. Мы поставили перед собой цель выявить причины нарушения ксилогенеза у КБ.

Для дифференцировки сосудов необходим ауксин (ИУК) (Aloni, 2013, 2015). Ранее мы высказали гипотезу, согласно которой блокирование дифференцировки производных камбия в сосуды при формировании узорчатой древесины КБ связано с повышением в тканях ствола уровня сахарозы, следствием чего становится увеличение уровня УДФ-глюкозы (УДФГ), взаимодействие которой с ауксином приводит к его инактивации в результате образования конъюгата ИУК-глюкоза (Новицкая и др., 2015, 2016).

В рамках проверки данной гипотезы были поставлены эксперименты с введением в ткани ствола ОБ растворов сахарозы разной концентрации. Подсчет числа сосудов в зоне эксперимента показал, что с ростом концентрации экзогенной сахарозы количество сосудов в ксилеме снижается.

Реакцию синтеза ИУК-глюкозы катализирует фермент ИУК-глюкоза синтаза (УДФГ трансфераза). В тканях КБ мы выявили высокий уровень экспрессии гена, кодирующего ИУК-глюкоза синтазу, тогда как у ОБ его транскрипты едва обнаруживались. Существует тесная взаимосвязь между сверхэкспрессией данного гена и высокой активностью фермента (Ostrowski, Jakubowska, 2014). Таким образом, наши данные указывают на высокую активность ИУК-глюкоза синтазы в тканях ствола КБ.

Субстратом для образования ИУК-глюкозы, наряду с ИУК, служит УДФГ. Основной вклад в синтез УДФГ в растениях осуществляют сахарозосинтаза (СС) и УДФГ-пирофосфорилаза (УДФГ-ПФ). В ксилеме КБ активность СС низкая (0,11 мкмоль/мг белка за 30 мин), а активность УДФГ-ПФ очень высокая (3,40 мкмоль/мг белка за 1 мин). Из этого следует, что источником УДФГ для синтеза ИУК-глюкозы, скорее всего, служит реакция превращения Гл-1-Ф в УДФГ, катализируемая УДФГ-ПФ. Недавно было показано, что источником Гл-1-Ф в клетках могут быть гексозы, образующиеся при расщеплении сахарозы с участием инвертазы (Инв), более того Инв может обеспечивать количество УДФГ, необходимое для нормального роста и развития растения (Barrat et al., 2009). У КБ из всех форм Инв наибольшей активностью обладает апопластная инвертаза (АпИнв), причем как в ксилеме, так и во флоэме КБ активность АпИнв намного выше, по сравнению с ОБ. На основании этого мы делаем вывод, что основным источником гексоз для синтеза Гл-1-Ф у КБ служат моносахара, поступающие в клетку из апопласта.

Интенсивная конъюгация ауксина в зонах структурных аномалий ствола КБ позволяет предположить, что локальная инактивация гормона приводит к нарушению его базипетального транспорта. Мы исследовали уровень экспрессии генов семейства *PIN*, кодирующих одноименные белки, являющиеся трансмембранными переносчиками ИУК. Установлено, что у КБ и ОБ в период камбиального роста ген *PIN1* экспрессируется примерно одинаково, тогда как экспрессия генов *PIN2* и *PIN3* у КБ выше более, чем в два раза. Поскольку белки *PIN2* и *PIN3* обеспечивают отклонение от базипетального транспорта ИУК (Feraru, Friml, 2008), их сверхэкспрессия может вызывать нарушение формы и ориентации структурных элементов ксилемы у КБ.

Установлено, что повышенные уровни глюкозы (Гл) изменяют пространственное распределение *PIN*-белков, приводя к их большей аккумуляции на латеральных клеточных стенках (Mishra et al., 2009). В итоге потоки ауксина изменяют направление с базипетального на латеральное. Применительно к КБ это означает, что структурные особенности ее ксилемы могут быть вызваны изменением направления потоков ИУК в связи с изменением пространственной экспрессии *PIN*-генов под действием повышенного уровня Гл. Биохимический анализ свидетельствует о том, что у КБ уровень Гл намного ниже, чем у ОБ. В то же время, высокая активность АпИнв в тканях ствола КБ указывает на образование здесь большого количества моносахарида. Из этого следует, что у КБ в клетку из апопласта поступает большое количество Гл, которая внутри клеток интенсивно метаболизируется. Сопоставление комплекса наших данных с данными литературы указывает на то, что на изменение пространственной экспрессии *PIN*-генов, возможно, большее влияние оказывает интенсивность трансмембранного потока глюкозы, чем ее концентрация в клетке.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 16-04-01191\_a.

## Нанокompозит селена как антибиотик для растений картофеля

Ножкина О.А.

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, ул. Лермонтова, д.132, г. Иркутск, Россия  
[smallolga@mail.ru](mailto:smallolga@mail.ru)

Заболевание картофеля кольцевой гнилью, вызываемое бактериальным патогеном *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*, приводит к большим потерям урожая во всем мире. На сегодняшний день нет эффективных методов в борьбе с заболеванием, а те методы что существуют, основаны лишь на обеззараживании инвентаря, тары и посадочного материала. В качестве средств обеззараживания используются вещества потенциально опасные для растений. Несмотря на то, что бактерии погибают в почве, способность зимовать в пораженных клубнях и сохраняться в течение нескольких лет в виде высушенной слизи на поверхности тары, инвентаре, уборочной технике и в овощехранилищах остается. Монокультура картофеля способствует увеличению инфекционности почвы, что в итоге приводит к увеличению числа пораженных растений и клубней. Поэтому необходимо разработать «нанокompозитное лечение» растений.

Селен – это биологически активный микроэлемент, входящий в состав ряда гормонов и ферментов живых организмов, а также он принимает участие в митозе культивируемых клеток. В настоящее время селен, наряду с витаминами А, Е, и С, считается одним из четырёх главнейших компонентов неферментативного пути системы защиты организма. Другая важная роль селена заключается в антагонизме с тяжелыми металлами и в ряде работ показано протективное значение селена при накоплении в организме кадмия и ртути.

Перечисленные выше свойства селена позволяют разработать на его основе препарат для оздоровления растений. В нашей работе было изучено влияние нанокompозита элементного селена с арабиногалактаном, гуминовыми кислотами разных видов и серебром на жизнеспособность фитопатогенной бактерии *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* и растений картофеля *in vitro*. Экспериментально было доказано, что выше указанные нанокompозиты влияют на жизнеспособность бактерий и их морфологию, что дает полное основание считать данные нанокompозиты, а в частности композиты с содержанием селена, новыми средствами, оказывающие минимальное воздействие на растение – хозяин, но максимально губительно воздействующие на фитопатоген.

В ходе лабораторных исследований нами было доказано, что нанокompозит селена может влиять на морфологию микробных клеток, что показывает снижение мембранной проницаемости клеток бактерий. Нами были проведены опыты с окрашиванием бактерий флуоресцентными красителями: флуоресцеин диацетата и пропилий йодида. Данные опыты позволили нам увидеть при помощи микроскопа влияние нанокompозитов (флюоресцирование мертвых бактерий). Рассмотрение явления флюоресцирования мертвых клеток бактерий дало нам понять как нанокompозит действует на патоген, изменяя его морфологическое строение (при «переваривании» бактериями нанокompозита происходит их укорачивание и утолщение). Изменение морфологического строения клеток приводит к гибели самих клеток. Бактерии как бы «проглатывают» композит, а он изнутри их «разрывает». Происходит нарушение мембранного обмена веществ, что приводит к ее разрыву. И именно поэтому изучение и разработка нанокompозитов на основе Se является новым путем развития для сельского хозяйства и науки, так как использование нанокompозитов ранее было замечено лишь в отраслях медицины и промышленности. Также нами был проведен опыт с окрашиванием бактериальных клеток, который помог нам выявить устойчивость различных сортов картофеля (сорта картофеля Сарма, Лукьяновский и Луговой) к исследуемому фитопатогену. Данный опыт показал при рассмотрении на микроскопе AxioObserver Z1 («Carl Zeiss», Германия) с цифровой монохромной камерой AxioCam MRm3, что сорта картофеля Луговой и Сарма более устойчивы к бактерии рода *Clavibacter*. Проведенное исследование можно взять как один из методов определения устойчивости растений, являющийся простым в применении и использовании и менее затратный.

На основе выше изложенного можно сказать, что это новый прорыв в науке для борьбы с сельскохозяйственными фитопатогенами.

**Оптимизация технологии соматического эмбриогенеза сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.)****Носкова Н.Е. \*, Носкова М.А. \*\*\*, Аксиненко М.А. \* \*\***

\*ФГБОУ ВО «Красноярский аграрный университет», пр. Мира 90, г. Красноярск, Россия

\*\*ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет», пр. Свободный 79, г. Красноярск, Россия  
[masha\\_nosk@mail.ru](mailto:masha_nosk@mail.ru)

Соматический эмбриогенез – новая категория вегетативного размножения, которая приводит к формированию из соматической клетки зародышевой структуры, развитие которой ведет к образованию целого растения. Соматический эмбриогенез в настоящее время является наиболее перспективным способом микроклонального размножения хвойных и может внести существенный вклад в решение вопросов рационального использования лесных ресурсов.

Сосна обыкновенная является одним из основных лесообразователей Сибири и играет важную экономическую и средобразующую роль; в естественных условиях вегетативно не размножается.

В ЛБ СХиЛК Красноярского ГАУ с 2012 г. ведутся работы по получению соматического эмбриогенеза у сосны обыкновенной, изучению физико-химических факторов, влияющих на инициацию, пролиферацию, стабилизацию и сохранение эмбриогенных линий, и химического состава полученных эмбриогенных масс. Цель исследования – оптимизация биотехнологии соматического эмбриогенеза сосны обыкновенной на стадии инициации, пролиферации и сохранения, предобработки эмбриогенных масс перед трансплантацией их на среды для созревания соматических зародышей.

Объектом исследования послужили деревья сосны обыкновенной, произрастающие на территории республики Бурятия и Иркутской области, а также, эмбриогенные массы, полученные в ходе соматического эмбриогенеза в 2012 г. (линия 911) и в 2014 г. (линии 41 и 28).

В эксперименте по инициации соматического эмбриогенеза материалом послужили образцы шишек на стадии развития проэмбрио – начала кливажа. В качестве эксплантов использовали изолированные мегагаметофиты. Культивирование проводили на твердых средах  $\frac{1}{2}$  LV и DCR без регуляторов роста и с добавлением 2-3 мг/л 2,4 D и 1-0,5 мг/л 6-БАП. В 2014 г. в культуру было введено 895, а в 2015 – 1232 шт. эксплантов. В ходе инициации через 3-5 сут. мегагаметофиты увеличивались в размерах, у многих из них происходил разрыв ткани. В течение 15- 30 сут. на средах с регуляторами роста у 2,1-2,2 % эксплантов наблюдались экстрезии эмбриогенной массы в районе микропиле. Через 40-50 сут. экстрезии у деревьев №№ 28 и 41 в 2014 г. и №№ 13 и 16 в 2015 г. проявили признаки пролиферации масс, остальные – деградировали. Проллиферирующие массы пересаживали на среды с пониженным содержанием регуляторов роста с последующими трансплантациями на свежие среды через каждые 14 сут. В ходе эксперимента эмбриональные структуры эмбриогенных масс претерпевали морфолого-анатомические изменения и через 2-2,5 мес. состояли из проэмбриональных структур и глобул соматических зародышей.

Оптимизацию соматического эмбриогенеза сосны обыкновенной на стадии пролиферации и сохранении эмбриогенных масс проводили по физико-химическим факторам: вид и количество углеводов, состав и соотношение регуляторов роста, соотношение форм неорганического азота – в составе питательной среды и «система среды» (культивирование масс на твердых средах или в жидких системах).

Исследования показали, что условия содержания в среде регуляторов роста в количестве 2 мг/л 2,4D и 0,5 мг/л 6-БАП в присутствии сахарозы оптимальны для быстрого наращивания биомассы. Снижение концентрации регуляторов роста (1,5 мг/л 2,4D и 0,25 мг/л 6-БАП) и замена углевода на мальтозу позволило увеличить время между трансплантациями на свежие среды более чем в 2 раза.

Культивирование эмбриогенных масс в жидких системах с ватными дисками оказалось более эффективным по сравнению с агаризованными средами.

В эксперименте по влиянию соотношения форм неорганического азота варьировалось молярное соотношение восстановленной и окисленной форм азота  $\text{NH}_4^+ : \text{NO}_3^-$ : 1/9, 2/8, 4/6, 6/4, 8/2. При этом отслеживали динамику роста и прирост эмбриогенной ткани по объему и массе. Для линии № 28 и № 41 наиболее оптимальным оказалось соотношение неорганических форм азота как 6/4. Линия № 911 показала близкий по значениям отклик на разные условия эксперимента, что, вероятно, обусловлено высокой адаптивной способностью.

Эксперимент по предобработке эмбриогенных масс перед трансплантацией их на среды для созревания проводили в присутствии регуляторов роста – абсцизовой кислоты, абсцизовой и гиббереллиновой кислоты и без них. «Система среды» представляла собой культивирование масс на твердых средах, в жидких системах с использованием ватных дисков в качестве впитывающих материалов или в виде суспензии. Было выявлено, что на регенерацию глобул соматических зародышей из проэмбриогенных структур факторы «система среды» и наличие регуляторов роста в среде, оказывают достоверно значимое влияние ( $P < 0.05$ ). Сила влияния каждого фактора составила, соответственно, 17,8% и 12,9%. Взаимодействие факторов заметно снижало силу их влияния (10,0%). В варианте опыта на твердой среде без добавления регуляторов роста формировалось наибольшее количество глобулярных соматических зародышей с длинными суспензорами (83,25 %).

Исследования проводились при финансовой поддержке грантовой программы «У.М.Н.И.К.» № 2391ГУ1/2014 и №7815ГУ2/2015.

## **Выход семян из покоя: АБК и активация протонной АТФазы плазмалеммы**

*Обручева Н.В., Литягина С.В., Синькевич И.А.*

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН. Ботаническая ул., 35, Москва, Россия  
[obroucheva@ippras.ru](mailto:obroucheva@ippras.ru)

Приведены данные по семенам конского каштана *Aesculus hippocastanum*, находящимся зимой в состоянии глубокого физиологического покоя. Выход из него завершается быстрым прорастанием в результате растяжения клеток гипокотилия. В течение 4-месячного пребывания семян в условиях влажной холодной стратификации изучали способность изолированных осевых органов расти в оптимальных условиях. В течение первых 5-6 недель осевые органы очень медленно приобретают способность наклониться, тогда как в дальнейшем их способность к росту усиливается и ускоряется. Установлены два этапа покоя: вначале осевые органы характеризуются собственным покоем, сочетающимся с покоем, наложенным кожурой. После потери покоя самими осевыми органами, сохраняется лишь покой, обусловленный присутствием кожуры, препятствующей поступлению воды к осевым органам зародыша, но сами осевые органы уже способны быстро прорасти. В этой системе изучена активность протонной АТФазы плазмалеммы в осевых органах по их способности подкислять наружный раствор, то есть выделять  $H^+$  ионы. Известно, что активность этого фермента проявляется в выносе  $H^+$  ионов из цитоплазмы через плазмалемму в оболочки клеток, в результате чего усиливается растяжимость клеточных стенок и создается возможность инициации растяжения клеток. По сдвигу рН в кислую сторону легко оценить активность плазмалеммной  $H^+$ -АТФазы и подкисление ею оболочек. Показано, что изолированные осевые органы в период собственного покоя очень слабо выделяют  $H^+$  ионы и что такое подкисление не усиливается специфическим активатором фермента фузикокином ( $10^{-6}$  М). Вероятно в этот период фермент находится в самоингибированном состоянии. При потере осевыми органами собственного покоя и приобретении клетками способности к растяжению происходит активное подкисление клеточных стенок, которое еще более усиливается в присутствии фузикокина. Тем самым доказано, что выход осевых органов зародыша из покоя обусловлен активацией в них плазмалеммной  $H^+$ -АТФазы. При инкубации изолированных зародышей в  $10^{-5}$  М растворе АБК собственный покой осевых органов сохраняется, активации подкисления не происходит и семена не прорастают, то есть ингибируются выход из покоя и прорастание. Отсюда следует, что состояние покоя осевых органов зародыша обусловлено эндогенной АБК, которая ингибирует активацию плазмалеммной  $H^+$ -АТФазы, а снижение содержания АБК приводит к активации фермента, выходу осевых органов из покоя, быстрому прорастанию и росту осевых органов после прорастания.

Работа поддержана грантом РФФИ № 17-04-00859.

## Влияние деметилирующего ДНК 5-азациитидина на устойчивость растений *Arabidopsis thaliana* к абиотическим стрессам

Огнева З.В.\*\*, Супрун А.Р.\*, Дубровина А.С.\*\*\*, Киселев К.В.\*\*\*

\*Дальневосточный федеральный университет, Школа естественных наук, г. Владивосток, ул. Октябрьская 27, 690090, Россия.

\*\*ФГБУН Федеральный научный центр «Биоразнообразие наземной биоты Восточной Азии», Дальневосточного отделения РАН, г. Владивосток, пр. Столетия Владивостоку, 159, 690022  
[zlata.v.ogneva@gmail.com](mailto:zlata.v.ogneva@gmail.com)

На сегодняшний день довольно хорошо изучены процессы устойчивости растений к абиотическим стрессам с точки зрения экспрессии отдельных генов в исследуемых растениях. Однако генетически идентичные растения в разных условиях могут проявлять тот или иной признак по-разному. Это связано с эпигенетическими механизмами, среди которых основной и наиболее хорошо изученных это метилирование ДНК растений. Цитозинное метилирование ДНК – это модификация молекулы ДНК без изменения нуклеотидной последовательности, которая осуществляется путем присоединения метильной группы (-CH<sub>3</sub>) к цитозину с помощью фермента метилтрансферазы, а деметилирование метилцитозина обратно в цитозин происходит с помощью фермента деметилазы. Данный механизм является очень важным для поддержания стабильности генома и регуляции экспрессии генов у высших растений и других организмов. Но на данный момент мало информации описывающей участие метилирования ДНК в устойчивости растений к абиотическим стрессам. Поэтому целью нашей работы было определить зависимость между уровнем цитозинового метилирования ДНК и устойчивостью растений к различным абиотическим стрессам.

В данной работе мы использовали растения *Arabidopsis thaliana*, где контрольная группа растений была с естественным уровнем цитозинового метилирования ДНК, а экспериментальная была с искусственно заниженным уровнем метилирования. Уровень метилирования у исследуемых растений занижался с помощью добавления в почву специального деметилирующего агента 5-азациитидина (5А) в расчете 20 мг 5А на 100 грамм почвы. Контрольные и экспериментальные растения подвергались различным абиотическим стрессам: соль (вымачивание горшков в течение 6 часов в растворе 350 мМ NaCl), тепло (+45°C), засуха (2-3 недели без полива) и холод (-10°C). Добавление 5А к почве значительно уменьшило устойчивость растений *A. thaliana* к засухе, солевому и тепловому стрессу в 1,3-1,7 раза по сравнению с необработанными 5А растениями. В то время как обработка 5А не повлияла на устойчивость растений к холоду.

Для выяснения молекулярного механизма действия 5А при засухе, солевом, тепловом и холодном стрессах была определена экспрессия 27 стресс-маркерных генов *A. thaliana*. Мы оценивали экспрессию стресс-маркерных генов (*ABA1*, *ABA2*, *ABF3*, *ABI1*, *ABI2*, *ABI3*, *ABI4*, *ABI5*, *CBF1*, *COR15*, *COR47*, *DREB1A*, *DREB2A*, *Kin1*, *LEA*, *LTP3*, *P5CS*, *Rab18*, *RD22*, *RD26*, *RD29A* и *RD29B*), генов, кодирующих ионные переносчики (*NHX1* и *SOS1*) и антиоксидантные гены (*CAT1*, *CSD1* и *CSD2*). Анализ экспрессии интересующих генов проводился с помощью ПЦР в реальном времени на контрольных и обработанных 5А растениях *A. thaliana*, подвергнутых воздействию условий холода, засоления, тепла и засухи. Важно отметить, что используемые стрессовые воздействия значительно увеличивали экспрессию описанных стресс-маркерных генов, однако добавление 5А препятствовало этому увеличению. Это подтверждает физиологическую значимость метилирования ДНК при регуляции экспрессии генов в ответ на воздействия окружающей среды.

Так же в ходе настоящей работы, было обнаружено, что обработка 5А ускоряет развитие используемых растений - растения после обработки 5А имели достоверно большую сырую и сухую биомассу. Кроме того, обработка 5А увеличила количество цветковых растений: около половины всех растений были с цветоносными побегами, в то время как, без обработки 5А только около 27%.

Таким образом, можно сделать вывод, что экспериментальное снижение метилирования ДНК приводит к получению менее устойчивых к абиотическим стрессам растений. Этот факт означает, что, возможно, искусственное повышение уровня метилирования определенных участков ДНК растений может привести к получению растений с повышенной устойчивостью к неблагоприятным условиям окружающей среды, что требует отдельного исследования.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (16-04-00839а).

## Гребни винограда – источник полифенольных соединений

*Олейникова В.С., Брановицкая Т.Ю.*

ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского» Таврическая академия, пр-т академика Вернадского, 4, Симферополь, Россия.  
[79787713604@mail.ru](mailto:79787713604@mail.ru)

Виноделие в Крыму – одна из развитых отраслей на полуострове. Потребительский спрос вина неизмеримо растёт, в результате чего виноделие настоящего времени требует новых форм, технологий и ассортимента вина, богатого биологически активными веществами.

Полифенолы играют важную роль в составе и качестве вин, особенно красных. Благоприятное действие красных сухих вин обеспечивается достаточным содержанием фенольных веществ. Спектр их биологической ценности очень широк: адаптогенное и стимулирующее ЦНС действие, Р-витаминная активность, антимикробное действие, седативное действие, гипотензивное и спазмолитическое действие и др.

В грозди винограда ароматические вещества сосредоточены преимущественно в гребнях, кожице и семенах. Существует много способов экстракции фенольных веществ из кожицы винограда. Одним из альтернативных способов экстракции является извлечение полифенолов из гребней винограда. В основном при производстве вина гребни винограда не используют, а утилизируют. Но так как они содержат большое количество фенольных веществ, их можно использовать в виноделии, тем самым обогащая вино полифенольными соединениями. Содержание ароматических веществ в гребнях винограда составляет порядка 150 мг на 100 г сухого вещества на момент сбора.

Анализ литературных данных показывает, что вопрос извлечения биологически активных веществ из гребней винограда мало изучен. Следовательно, целью наших исследований явилось: изучить комплекс полифенольных соединений в гребнях винограда и определить способы их экстракции, позволяющие добиться максимального извлечения.

Изучение количественного содержания полифенольных веществ определялось колориметрическим методом с использованием реактива Фолина – Чокальтеу. Для исследований был взят районированный в Крыму виноград технического сорта Бастардо магарачский. Полученные данные математически обработаны и статистически достоверны.

Экстракцию технологического запаса фенольных веществ из гребней проводили с помощью этилового спирта в четырех различных концентрациях: 40%, 50%, 60% и 70%. В результате проведенных исследований было показано, что максимальная экстракция полифенолов происходит при применении экстрагента с концентрацией 40% и 50% и соответствующие показатели составляют: 1766 мг/дм<sup>3</sup> и 1789 мг/дм<sup>3</sup>. При этом показатели в случае экстрагента с концентрациями 60% и 70% составили 1508 мг/дм<sup>3</sup> и 1327 мг/дм<sup>3</sup> соответственно.

При изучении динамики перехода фенольных веществ из гребней и кожицы винограда в вино нами было взято 9 проб, в которых на 100 г ягод винограда приходилось по 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25 г гребней, оставив при этом выжимки. Десятая проба – контроль, без добавления гребней, полученный показатель составляет 1852,6 мг/дм<sup>3</sup>. В результате проведенных исследований выявлено, что максимальное содержание фенольных веществ в пробах с содержанием гребней (г): 2, 10, 15, и соответствующие показатели составляют: 2140,4 мг/дм<sup>3</sup>, 2350,8 мг/дм<sup>3</sup>, 2403,4 мг/дм<sup>3</sup>, что на 15,5%, 26,9% и 29,7%, соответственно, больше контроля. При этом показатели в пробах с содержанием гребней 1, 3, 4, 5, 20, 25 г составили: 2024,4 мг/дм<sup>3</sup>, 1912,2 мг/дм<sup>3</sup>, 2000 мг/дм<sup>3</sup>, 1973,6 мг/дм<sup>3</sup>, 2017,2 мг/дм<sup>3</sup>, 1877,2 мг/дм<sup>3</sup> соответственно.

Нами было исследовано брожение на мезге с добавлением чистой культуры дрожжей ВМ4×4 фирмы производителя LALVIN при нагревании (30 - 35°C) и охлаждении (10 - 15°C). Сроки брожения – 1 неделя. Для этого пробы с количеством гребней (г) на 100 г ягод: 2, 10, 15 испытывали на влияние высоких и низких температур. При изучении влияния нагревания лучший показатель определен в пробе с 10 г гребней и составляет 2470,8 мг/дм<sup>3</sup>. В результате брожения при охлаждении наивысший показатель вычислен также в пробе с 10 г гребней и составляет 2109 мг/дм<sup>3</sup>.

Вывод: В результате исследований показано, что гребни являются источниками полифенольных веществ. Максимальная экстракция фенольных веществ происходит при нагревании, низкие температуры не оказывают благоприятного влияния на экстракцию.

## Накопление ионов $\text{Na}^+$ , $\text{Cl}^-$ и $\text{K}^+$ в органах растений *Artemisia santonica* L. и стратегия их адаптации к засолению

Омельченко А.В., Жижина М.Н.

Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского, проспект Вернадского, 4, Симферополь, Россия  
[omelchenko\\_tnu@mail.ru](mailto:omelchenko_tnu@mail.ru)

Основной стратегией поддержания ионного гомеостаза в клетках и тканях растений, произрастающих в условиях засоления, является понижение водного потенциала клеток до уровня, более низкого, чем водный потенциал почвы. Устойчивость растений к засолению обеспечивается избирательным накоплением или исключением «засоляющих» ионов, контролем ионного поглощения корнями и транспорта в листья, компартментализации ионов на уровне клетки и целого растения.

Одной из групп растений, способных произрастать на почвах с высоким содержанием «засоляющих» ионов являются гликогалофиты (соленепроницаемые галофиты). Гликогалофиты обладают ярко выраженной способностью регулировать поступление и распределение в тканях «засоляющих» ионов и не допускают их избытка в жизненно важных органах. Аналогичной способностью должны характеризоваться и многие гликофитные растения, включающие большинство культурных растений (пшеница, кукуруза, фасоль, горох, хлопчатник, тыква). Поэтому изучение содержания и распределения «засоляющих» ионов в тканях растений гликогалофитной группы является актуальным и способствует большему раскрытию механизмов адаптации гликофитов, произрастающих в условиях засоления.

В связи с этим целью наших исследований явилось определение содержания и распределения в органах неорганических ионов у гликогалофита *Artemisia santonica* L., произрастающего в условиях почвенного засоления. В качестве объекта исследований был выбран гликогалофит *A. santonica* L. (Полынь сантонинная) из семейства Asteraceae (Сложноцветные), произрастающего в природных условиях в окрестностях соленого озера Сасык (Северо-Западный Крым). Растительный материал для исследований отбирался в фазу вегетации. Содержание неорганических ионов  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  и  $\text{K}^+$  в растительном и почвенном образцах определяли с помощью ионного хроматографа IC PRO 881 Metrohm (Швейцария).

Полученные данные показали, что растения *A. santonica* произрастали в условиях с низкой влажностью почвы - 7,6 % и содержанием неорганических ионов:  $\text{Na}^+$  - 79,8,  $\text{Cl}^-$  - 120,3,  $\text{K}^+$  - 98,3 мг/кг сухой почвы.

Анализ содержания ионов  $\text{Na}^+$  в органах растений гликогалофита *A. santonica* показал, что его уровень в корнях составлял 215,0 мг/кг, а в надземной части - 147,2, мг/кг, тогда как содержание ионов  $\text{K}^+$  и  $\text{Cl}^-$  в корнях было 392,7 и 105,3 мг/кг, а в надземной части 961,7 и 351,1 мг/кг соответственно. Такое распределение ионов по органам способствует поддержанию градиента осмотического давления и, следовательно, водного потенциала в системе почва-корень-побег, что дает возможность растению поглощать воду корнями и транспортировать ее в надземные органы.

Таким образом показано, что для гликогалофита *A. santonica* характерна локализация ионов  $\text{Na}^+$  преимущественно в тканях корня, тогда как в надземной части ионов  $\text{K}^+$  и  $\text{Cl}^-$ .



**Peroxidase-mediated formation of superoxide radical in *Dicranum scoparium* Hedw.****Onele A.O. \*\*, Chasov A.V. \*\*\*, Viktorova L.V. \*, Minibayeva F.V. \*\*\***

\*Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, Kazan Science Centre, Russian Academy of Sciences, Lobachevsky St, 2/31, Kazan, Russia

\*\*Kazan Federal University, Kremlyovskaya St, 18, Kazan, Russia.  
[donjay.ao@gmail.com](mailto:donjay.ao@gmail.com)

Mosses are higher non-vascular plants. They are considered as the earliest land plants that diverged from vascular plants more than 450 million years ago. Evolutionary studies of these plants have made mosses attractive model systems for investigating plant metabolism. ROS production such as superoxide anion radical ( $O_2^{\cdot-}$ ), hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) or hydroxyl radical ( $HO^{\cdot}$ ) and defense-related antioxidative enzymatic mechanisms are involved in responses of plants to stresses. Peroxidases (class III, EC 1.11.1.7) are universal enzymes in vascular plants able to oxidize different substrates using  $H_2O_2$  as electron donor especially in the cross-linking of cell wall components and different molecules. Contradictorily, these antioxidative enzymes can also produce ROS under certain conditions. The essential facts about ROS formation in vascular plants are well studied. However, we are still far from understanding fully the mechanisms of ROS formation in mosses. It is possible that peroxidases of moss plants, similarly to peroxidases of higher vascular plants, are the key enzymes involved in stress reactions and formation of ROS. Structural identification and functions of moss peroxidases will help us to understand the evolutionary aspects of ROS production and detoxification in higher plants.

Peroxidase activity in moss *Dicranum scoparium* Hedw. was twice high as that in *Hylocomium splendens* (Hedw.) B.S.G. and *Pleurozium schreberi* (Brid.) Mitt., other moss species growing together in the same location. Among redox enzymes tested in the crude extract of *D. scoparium* peroxidase displayed the highest activity compared to catalase and phenoloxidase. Protein separation by PAGE in non-denaturing conditions and isoelectric focusing (IEF) revealed the presence of diverse peroxidases with major anionic isoforms. Peroxidases in *D. scoparium*, *H. splendens* and *P. schreberi* are present in different isoforms detected by gradient PAGE (3-12 %) in non-denaturing conditions. Visualization of peroxidase activity by staining with *o*-dianisidine in the protein extracts revealed two major isoforms with corresponding molecular masses of 197 and 263 kDa in *D. scoparium*, five major isoforms *H. splendens* and four isoforms in *P. schreberi*. We discovered that peroxidase of *D. scoparium* could oxidize typical peroxidase substrates such as 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonic acid (ABTS), *o*-dianisidine, *p*-coumaric acid and caffeic acid, mediated by  $H_2O_2$ . Among these substrates, ABTS demonstrated the highest affinity to peroxidases as it displayed lowest value of ( $K_m$ ) while the highest  $V_{max}$  was observed during the oxidation of *o*-dianisidine. Isoelectric focusing conducted after purification of both crude extract and proteins precipitated from a crude extract of *D. scoparium* with ammonium sulfate revealed more isoforms of peroxidases with *pI*s of 4.0, 4.1, 4.2, 4.3, 4.5, 4.6, 4.8, 5.1, 8.8, 9.1, 9.3, 9.5, 9.8.

Partial purification of peroxidases using ion exchange chromatography demonstrated a single peak of peroxidase activity at 30 % NaCl. Combined peak fractions were subjected to IEF separation and subsequent 10 % PAGE separation. It was found that each major peroxidase isoforms with *pI*s of 4.6, 4.8, 5.1 split into two isoforms with molecular masses similar to that of crude extract of ~ 197, 263 kDa, while the isoform with a *pI* 4.0 was represented by one isoform with a molecular mass of ~263 kDa. To determine cellular location of peroxidases, cell wall fractionation of proteins from *D. scoparium* was performed. Peroxidases from all fractions were capable of producing  $O_2^{\cdot-}$  by 2,3-bis-(2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanilide (XTT) reduction assay, which is reduced by  $O_2^{\cdot-}$  to soluble formazan in the presence of NADH. Specificity of  $O_2^{\cdot-}$  production was confirmed by the addition of superoxide dismutase (SOD), an enzyme that dismutates  $O_2^{\cdot-}$ . Almost half of XTT reduction was inhibited following SOD addition. Production of  $O_2^{\cdot-}$  by peroxidases from *D. scoparium* was further supported by in-gel nitrotetrazolium blue chloride (NBT) staining as all peroxidase bands stained with *o*-dianisidine coincided with the bands stained with NBT in the presence of NADH as a reductant. 2D electrophoresis of fractions showed spots displaying peroxidase activity and they could also produce  $O_2^{\cdot-}$ .

In conclusion, our data demonstrate the presence of diversity of peroxidase isoforms displaying both pro- and antioxidative activities in moss *D. scoparium*. This finding suggests that the ability of peroxidases to produce and detoxify ROS is an evolutionarily conserved characteristic, highly important for stress tolerance and successful development of plants.

This work was financially supported by the Russian Foundation for Basic Research (grants 14-04-93962, 17-44-160142).

## Влияние селена и кремния на развитие адаптивных реакций ячменя при действии окислительного стресса

*Осипова Л.В., Курносова Т.Л., Быковская И.А.*

ФГБУН «ВНИИ агрохимии» им. Д.Н. Прянишникова, Москва, Россия  
[legos4@yandex.ru](mailto:legos4@yandex.ru)

Наблюдаемое в последние десятилетия глобальное изменение климата привело к увеличению стрессовой нагрузки на растения и снижению их генетического потенциала. Предпосевная обработка семян биогенными элементами селеном и кремнием рассматривается как способ повышения устойчивости к экстремальным ситуациям. Селен и кремний входят в состав различных подсистем антиоксидантной защиты, что стало основанием для изучения их влияния на развитие адаптивных реакций ярового ячменя при действии окислительного стресса, индуцированного снижением водообеспеченности в критический период онтогенеза.

В вегетационных опытах оценивали физиологический статус растений ячменя до наступления стрессовой ситуации, в период максимальной напряженности стрессового фактора и во время репарации. Определяли содержание фотосинтетических пигментов – хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов, выполняющих в стрессовых условиях функцию фотозащиты. Уровень свободнорадикального окисления оценивали по накоплению малонового диальдегида – продукта перекисного окисления липидов мембран. Активность поглотительной способности корневой системы определяли по поступлению меченого азота ( $^{15}\text{N}$ ) в надземную массу ячменя.

При анализе полученных данных было установлено, что предобработка селеном и кремнием изменяет физиологический статус растений в течение всего периода вегетации. В оптимальных условиях культивирования на первых этапах органогенеза при прорастании семян и на IV-V этапах при закладке элементов генеративной сферы еще до наступления стрессовой ситуации в растениях было повышено содержание обеих форм хлорофилла и каротиноидов. Содержание хлорофилла *a* было увеличено по сравнению с необработанным контролем на 16-20%, хлорофилла *b* – на 20-35%, каротиноидов – на 20-25%, соответственно, при применении селена и кремния. Уровень свободнорадикального окисления, наоборот, был ниже контрольного варианта примерно в 2 раза, причем практически одинаково при применении селена и кремния. Несмотря на изменение окислительного статуса обработка семян не повлияла на морфометрические параметры: габитус и число цветков на конусе нарастания главного побега. Однако обработка селеном и кремнием привела к повышению адаптивности растений. Ограничение водообеспеченности индуцировало развитие окислительного стресса в растениях. В контрольном варианте (без обработки семян) резко возрос уровень свободнорадикального окисления, отмечалось торможение скорости поглощения корнями азота нитратов и его включения в белки надземной массы, наблюдалась редукция цветковых зачатков, что привело к снижению озерненности колоса и продуктивности ячменя.

Предобработка семян биогенными элементами изменяла реакцию растений на действие окислительного стресса. Протекторное действие изучаемых элементов было обусловлено снижением степени развития окислительного стресса, оптимизацией пигментного комплекса – увеличением содержания хлорофилла *b* и каротиноидов, защищающих структуры фотосинтетического аппарата от повреждений свободными радикалами, а также сохранением поглотительной способности корневой системы во время стресса, активацией поглощения азота и использования его на синтез белков в период репарации. Растения, семена которых были обработаны биогенными элементами селеном и кремнием, лучше подготовлены к возможному действию стрессовых факторов, поэтому переносили стресс с меньшими повреждениями, лучше восстанавливались после его окончания и, в результате, у них в меньшей степени повреждались генеративные органы, и сохранялась высокая продуктивность.

Эффективность действия селена и кремния была неодинакова, зависела от уровня свободнорадикального окисления. С увеличением продолжительности окислительного стресса защитное влияние селена снижалось, а кремния увеличивалось, что отражалось на изменении скорости поглощения нитратного азота, его ассимиляции в белки и продуктивности растений. При действии жесткого стресса возможна инактивация пула ферментов, элементом которого является селен, в этих условиях повышается роль кремния, входящего в другую систему антиоксидантной защиты.

## Ресурсы и потенциал видов полыней Якутии

Охлопкова Ж.М., Семенова А.К., Семенова Д.З., Иванова С.С., Егорова У.В.

Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова. Белинского ул., 58, Якутск, Россия  
[biotechnologyysu@rambler.ru](mailto:biotechnologyysu@rambler.ru)

Род *Artemisia* L. представлен во флоре многих стран и континентов интересными видами, из которых часть имеет народное применение в качестве носителей целебных свойств, имеет статус лекарственного растения и сырья, а часть остается не изученной. Исключением не является огромная и богатая природными растительными ресурсами территория Якутии (Республика Саха (Якутия)). Род *Artemisia* L. на территории Якутии насчитывает 39 видов, из которых 7 видов занесены в Красную Книгу Якутии. 22 вида полыней встречаются во флоре Центральной Якутии, включая эндемичные и редкие растения, из них 9 видов успешно введены в культуру в условиях Ботанического сада СВФУ и Якутского ботанического сада ИБПК СО РАН. А.А. Коробков при типификации таксонов рода *Artemisia*, описанных с территории Сибири и Дальнего Востока и хранящихся в коллекциях Гербария Ботанического института им. В. Л. Комарова, отмечает присутствие материалов по 17 видам полыней, собранных с территории Якутии. Накопленные знания и материал требуют комплексной оценки природных растительных ресурсов и биоактивного потенциала представителей рода *Artemisia* L., произрастающих на территории Республики Саха (Якутия).

В течение многолетних исследований на территории центральных, южных, северо-восточных, западных и арктических районов Якутии выполнена ресурсная оценка более десяти видов полыней с геоботаническим описанием и картографированием мозаичности произрастания, собрана уникальная коллекция виде гербарийного материала. Комплекс материалов используется в образовательных целях для прохождения обучаемыми (бакалавры, магистранты, аспиранты) профильных курсов и производственных практик. В научных целях мы рассматривали потенциал эфирных масел и экстрактов разных видов полыней как антистрессовых и противораковых агентов. Антистрессовый эффект эфирных масел полыней проверяли на группах добровольцев, проходящих терапевтическое лечение в наркологическом диспансере Якутии, первичный скрининг противораковой активности экстрактов видов полыней выполнили в условиях научно-исследовательских лабораторий антираковых исследований, гербологии и фармакологии (Пусанский национальный университет, Корея).

Эфирное масло *Artemisia yacutica* Drob., произрастающей на территории Амгинского района Якутии (Центральная Якутия) понизило уровень стресса наблюдаемых на 30-35% по сравнению с контрольной группой, с периодом ремиссии стрессового уровня до первоначального. Данный аспект требует продолжения исследований с расширением выборной группы на добровольной основе. Сухой метанольный экстракт из листьев *Artemisia kruhsiana* Bess., произрастающей на территории Оймяконского района Якутии (Северо-Восточная Якутия), при проведении МТТ-анализа показал высокую степень подавления клеток рака предстательной железы человека РС-3 и рака яичника A2780 по сравнению с контролем. Анализ данного экстракта на содержание суммарных флавоноидов и фенолов показал наличие 76,14±1,90 mgNE/g и 106,06±1,37mgTAE/g, соответственно, в 1 mg/ml образца.

Полученные результаты выявили актуальные направления расширения исследований по изучению биопотенциала видов полыней Якутии, произрастающих в условиях короткого вегетационного цикла и высокого сплошного залегания вечной мерзлоты.

## Поиск функционально активных аминокислотных мотивов фермента ДАГАТ2 у представителей рода Бересклет

Павленко О.С.\*\*\*, Лиходеевский Г.А.\*\*\*, Садовская Н.С.\*, Фадеев В.С.\*, Сидоров Р.А.\*, Голденкова-Павлова И.В.\*

\* Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Ботаническая ул., 35, Москва, Россия

\*\* Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Тимирязевская ул., 49, Москва, Россия

\*\*\* Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, ул. Мира, 19, Екатеринбург, Россия  
[helliga.p@gmail.com](mailto:helliga.p@gmail.com)

Ферменты семейства ДАГАТ (sn-1,2-диацил-3-ацил-трансферазы) играют ключевую роль в биосинтезе триацилглицеринов, осуществляя присоединение ацила жирной кислоты в sn-3-положение диацилглицерина. В клетках большинства высших растений ДАГАТ используют в качестве субстрата ацил-КоА, этерифицированный С16-С18 насыщенными или ненасыщенными жирными кислотами. Однако существуют виды, у которых в sn-3-положении триацилглицеринов находится остаток уксусной кислоты (С2). Масла, в состав которых входят такие триацилглицерины обладают высокой ценностью как в пищевой, так и в технической промышленности.

Недавно было показано, что растения рода бересклет имеют особую изоформу ДАГАТ, проявляющую субстратную специфичность к С2-С4 ацил-КоА. Целью нашей работы был поиск уникальных аминокислотных мотивов ДАГАТ, влияющих на субстратную специфичность фермента, для выявления которых использовалось множественное выравнивание аминокислотных последовательностей известных ДАГАТ2 разных видов растений с ДАГАТ2 представителей рода бересклет, в частности бересклета крылатого (*Euonymus alatus* Thunb.) и бересклета Максимовича (*Euonymus maximoviczianus* Prokh.), относящихся к под родам *Euonymus* и *Kalonymus* соответственно.

До недавнего времени были известны последовательности генов ДАГАТ только для одного вида бересклета - бересклета крылатого. Нами было проведено клонирование гена ДАГАТ2 из бересклета Максимовича, которое осуществляли методом RACE - Rapid Amplification of cDNA Ends, позволяющим идентифицировать 5'- и 3'-концевые фрагменты целевых транскриптов при наличии информации о фрагменте его нуклеотидной или аминокислотной последовательности. Определение нуклеотидных последовательностей клонированных фрагментов проводили с помощью секвенирования по методу Сэнгера. По результатам прочтения секвенированных последовательностей был собран полноразмерный транскрипт целевого гена из бересклета Максимовича размером 1036 п.н. Для поиска гомологов кодирующей последовательности гена ДАГАТ2 из бересклета Максимовича и его белкового продукта, был проведен анализ с использованием интернет ресурса BLAST. В результате получили выборку из 30 последовательностей, охарактеризованных как ДАГАТ2 и удовлетворяющих следующим критериям: «Query cover» > 70 %, «Identity» 40 > 99 %.

Далее, для полученной выборки белковых последовательностей ДАГАТ-2 при помощи пакета программ PHYLIP построили филогенетическое дерево, с использованием метода максимального правдоподобия. На основе полученного филогенетического дерева имеющуюся выборку ДАГАТ-2 разбили на три группы в соответствии с разделением на клады. Белки, принадлежащие к одной группе, выравнивали с использованием программы ClustalX. В одну группу с ДАГАТ2 бересклета Максимовича вошли последовательности ДАГАТ2 бересклета крылатого (ADF57328.1|Ea), резуховидки лировидной (XP\_002876092.1|Al), резуховидки Таля (NP\_566952.1|At) и шоколадного дерева (XP\_007046426.1|Tc), причём последовательности бересклета Максимовича и бересклета крылатого образовывали на дереве отдельную подкладу.

Выравнивание показало, что последовательности ДАГАТ2, попавшие в выборку, очень консервативны. По результатам выравнивания в первой группе выявлено 84 полностью консервативных аминокислотных остатка, что составляет 26,9 % от средней длины последовательности, во второй – 157 а.о. (48,0 %), в третьей – 51 а.о. (15,6 %). Таким образом, вторая группа белков, в которую входит ДАГАТ2 из бересклета Максимовича, имеет наиболее схожие последовательности. Выравнивание позволило выявить наличие общего для бересклета Максимовича и бересклета крылатого консервативного аминокислотного мотива, расположенного в N-концевой области белка, отличающего эти виды от других представителей группы 2. Наиболее заметным отличием между группами 1 и 2 является замена лейцина в положении 292 на фенилаланин у представителей второй группы. Группа 3 самая многочисленная, отличается от групп 1 и 2 меньшим числом высоко консервативных участков. Так, между группами 1 и 2 выявлено 74 консервативных аминокислотных остатка, тогда как между группами 1 и 3, и группами 2 и 3 – 40 а.о и 46 а.о., соответственно.

Таким образом нами впервые был клонирован полноразмерный ген ДАГАТ-2 бересклета Максимовича. Выявленные общие консервативные участки в аминокислотных последовательностях ДАГАТ-2 у гомологов позволяют говорить об их функциональной важности для проявления активности фермента в целом.

Влияние концентраций NaCl на продукционные характеристики растений *Nasturtium officinale* R.Br. применительно к искусственным экологическим системам

**Павлова А.М. \*, Гаевский Н.А. \*, Тихомиров А.А. \*\*, Тихомирова Н.А. \*\*, Ушакова С.А. \*\*, Грибовская И.В. \*\***

\* Сибирский федеральный университет. Проспект Свободный, 79, Красноярск, Россия

\*\* ФИЦ «КНЦ» институт биофизики СО РАН. Академгородок, 50, Красноярск, Россия  
[okcy92@mail.ru](mailto:okcy92@mail.ru)

Биорегенеративные системы жизнеобеспечения человека (БСЖО) являются искусственными замкнутыми экологическими системами, применяемыми как для космических, так и для земных целей. В БСЖО острой проблемой является включение во внутрисистемный круговорот хлористого натрия, который содержится в моче человека, что тормозит эффективное замыкание БСЖО. Для решения данной проблемы ранее было предложено включить в фототрофное звено БСЖО съедобные растения *Salicornia europaea* L., способные утилизировать хлористый натрий. Однако для создания более полноценной растительной диеты человека целесообразно исследовать возможности выращивания других устойчивых к засолению видов съедобных растений. С этой целью были исследованы растения водяного кресс - салата (*Nasturtium officinale* R.Br.) в качестве перспективных видов растений для культивирования в искусственных экологических системах.

Растения выращивали в вегетационной камере при круглосуточном освещении. Температуру воздуха в вегетационной камере поддерживали на уровне 24°C. Источником освещения являлись металлогалогенные лампы ДМЗ-3000. Интенсивность фотосинтетической активной радиации (ФАР) составляла 690 мкмоль\*м<sup>-2</sup>\*с<sup>-1</sup>. Растения водяного кресс – салата выращивали методом водной культуры в 2,5 - литровых сосудах из нержавеющей стали с посевной площадью 0,032 м<sup>2</sup>. Плотность посадки соответствовала 3 растениям на сосуд. В качестве питательного раствора использовали модельный раствор, имитирующий минеральный состав раствора с добавлением минерализованных экзометаболитов человека. Питательные растворы постоянно обогащали кислородом. В исследовании использовали группу модельных растворов с разными концентрациями хлористого натрия. В контрольном варианте растения выращивали на модельном растворе без добавления NaCl. Состояние растений оценивали по следующим характеристикам: массе сухого вещества растения, минеральному составу растений, содержанию пигментов в листьях растений, внешнему СО<sub>2</sub>-газообмену растений; содержанию МДА в клетках растений (уровень перекисного окисления липидов).

В результате выращивания растений водяного кресс - салата на модельных растворах с разными концентрациями хлористого натрия найдены пороговые концентрации хлористого натрия, значительно влияющие на продуктивность растений и позволяющие включить этот вид растений в круговоротный процесс для замкнутых экосистем с повышенной концентрацией хлористого натрия. У растений исследуемых вариантов также наблюдали отличия по внешнему СО<sub>2</sub> - газообмену, минеральному составу, содержанию пигментов в листьях растений и содержанию МДА в клетках растений. В докладе будет представлен детальный анализ зависимости падения продуктивности растений водяного кресс – салата от концентраций хлористого натрия в питательном растворе.

Работа была выполнена в ИБФ СО РАН при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект 14-14-00599).

## Полезные свойства антинутриентов бобовых культур

Павловская Н.Е., Гагарина И.Н.

ФГБОУ ВО Орловский государственный аграрный университет им. Н.В.Парахина, ул. Генерала Родина, 69, г.Орел,  
Россия  
[Ninel.pavlovsckaya@yandex.ru](mailto:Ninel.pavlovsckaya@yandex.ru)

Бобовые играют важную роль в питании человека, так как они являются богатым источником белка, энергии, некоторых минералов и витаминов (Qayum, 2012). Зернобобовые могут внести значительный вклад в решение проблемы голода, недоедания, решения экологических проблем и улучшения здоровья человека, уменьшая риск развития различных хронических дегенеративных заболеваний, таких как рак, ожирение, диабет и сердечно-сосудистые заболевания.

Вместе с тем, бобовые содержат большое разнообразие биологически активных компонентов, таких как лектины, ингибиторы ферментов, фитиновая кислота, пектины, фитостерины, фенольные соединения и сапонины. Эти биологически активные соединения, ранее рассматриваемые как анти-питательные вещества из-за своей способности уменьшать усвояемость белка и биодоступность минеральных веществ, оказывают защитное действие на здоровье, а также играют определенную роль в устойчивости растений к болезням и вредителям, входя в сигнальную иммунную систему клеток.

Сельскохозяйственные потери от болезней и вредителей являются сложной экономической и продовольственной проблемой. Глобальная продовольственная безопасность находится под угрозой в связи с ростом численности населения, появлением и распространением вредителей, значительно увеличивающаяся с изменением климата. Стратегия по преодолению ущерба, причиненного патогенами, включает химическую обработку, традиционную селекцию и трансгенные подходы. Начиная с 1980 года, была предложена и испытана новая стратегия борьбы с вредителями, такая как комплексная борьба (IPM) (Интегрированная борьба с вредителями) и использование трансгенных культур во избежание потерь сельскохозяйственных культур.

По данным авторов данной статьи, лектины, выделенные из семян бобовых культур (фасоли и сои), обладают фунгицидными свойствами против возбудителя корневых гнилей гороха *Fusarium oxysporum*. На основе лектинов создан препарат (патент 2372763 (РФ)), обладающий иммуномодулирующими свойствами, который не только повышает устойчивость гороха к возбудителю корневых гнилей, но и снижает применение химических пестицидов. Так, предпосевная обработка семян в растворах лектинов  $10^{-5}\%$  повышает устойчивость гороха к возбудителю корневых гнилей на 60%, а устойчивость к аскохитозу – на 14%. При этом отмечено снижение количества тли *Acyrtosiphon pisi kalt* более, чем в два раза. Снижение повреждения растений болезнями и вредителями приводит к увеличению массы семян и урожайности гороха на 23%.

Лектины способствуют формированию устойчивости растения к заражению микроорганизмами аналогично иммунной системе иммунокомпетентных организмов. Обработка растений препаратом зерновых, овощных культур и картофеля индуцировало усиление иммунных свойств растений, снижало заболеваемость, поражение насекомыми вредителями и повышало урожай на 10-15%.

Инсектицидные свойства лектинов используют в генной инженерии для создания устойчивых форм растений от насекомых-вредителей, а также бактериальных и вирусных патогенов.

Среди различных белков-ингибиторов, присутствующих в бобовых, наиболее широко представлены ингибиторы протеолитических ферментов и ингибиторы  $\alpha$ -амилаз. Очищенный ингибитор сои оказывает глубокое и негативное влияние на насекомых- вредителей, а ген соевого ингибитора протеазы может стать потенциальным источником формирования устойчивых трансгенных растений.

Наши данные показывают, что зернобобовые культуры сильно различаются по активности ингибиторов трипсина и химотрипсина. Наиболее высокой активностью ингибирования протеиназ отличаются соя и фасоль.

Обработка жуков гороховой зерновки вытяжкой ингибиторов трипсина в концентрации 2,69%, а химотрипсина в концентрации 0,32% приводит к гибели 60% жуков. Полученные результаты дают возможность говорить о тенденции токсического воздействия ингибиторов трипсина и химотрипсина на жизнедеятельность жуков *Bruchus pisorum L.*

Продукты, полученные из зернобобовых культур, содержат антипитательные компоненты: ингибиторы протеиназ и лектины, которые снижают их питательную ценность. Однако эти компоненты играют определенную роль в устойчивости растений к болезням и вредителям, что делает их перспективными в биотехнологии при создании новых биологических средств с иммуномодулирующими свойствами.

## Биохимические параметры устойчивости *Olea europaea* L. к неблагоприятным условиям зимнего периода на Южном берегу Крыма

Палий А.Е., Гребенникова О.А., Палий И.Н.

Никитский ботанический сад – Национальный научный центр, ул. Никитский спуск, 52, пгт Никита, г. Ялта, Крым, Россия  
[onlabor@yandex.ru](mailto:onlabor@yandex.ru)

Маслина европейская (*Olea europaea* L.) издавна культивируется на Южном берегу Крыма (ЮБК). Она неприхотлива в культуре: засухоустойчива, к почвам не требовательна, редко поражается болезнями и вредителями. Однако, ее культивирование ограничено из-за низкой устойчивости к отрицательным температурам. Климатические условия ЮБК позволяют получать хорошие урожаи, но в отдельные годы погодные условия зимнего периода могут вызывать значительные повреждения маслины, особенно у интродукционных сортов. Исследования метаболических процессов, функционально связанных с формированием морозостойкости у сортов маслины европейской важны для решения задач селекции и интродукции данной культуры. Целью работы являлось определение биохимических изменений, происходящих в вегетативных органах некоторых сортов маслины европейской при воздействии низких положительных и отрицательных температур в климатических условиях ЮБК.

Объектами исследований служили следующие сорта *O. europaea*: морозостойкий сорт 'Никитская', среднеустойчивый – 'Асколяно', слабоморозостойкие – 'Раццо', 'Кореджиоло' и подвид маслины европейской *O. europaea subsp. cuspidata*. Все растения произрастали на коллекционных участках Никитского ботанического сада. Для анализа отбирали однолетние листья в период ноября по март месяц. Определяли активность окислительно-восстановительных ферментов (каталазы, аскорбатоксидазы, полифенолоксидазы) и содержание биологически активных веществ (фенольных соединений, флавонолов и пролина).

В начале второй декады декабря 2016 г., когда на смену холодной погоде (минимальные температуры опускались до -2...-4°C) пришло резкое потепление до 9...13°C у слабоморозостойких сортов маслины наблюдалось резкое увеличение активности каталазы (в 2-3 раза). У морозостойкого сорта Никитская активность фермента, наоборот, снижалась. Далее, в третьей декаде декабря, при понижении температуры воздуха у слабоморозостойких сортов каталазная активность стремительно падала, в то время как у сорта Никитская активность возрастала приблизительно на 50%. В январе 2017 г. наблюдалась переменчивая, относительно холодная с обильными осадками погода, активность каталазы у слабоустойчивых сортов практически не изменялась, а у сортов Никитская и Асколяно - снижалась на 15-20%. Морозная и снежная погода начала февраля (среднесуточные температуры воздуха были в пределах -0,9...+3,4°C, а на поверхности почвы (снега) -0,3...-10,1°C) привела к снижению активности каталазы у всех сортов до минимальных значений. Полученные результаты согласуются с данными зимы 2015-2016 гг. и позволяют предположить, что изменение активности каталазы, вероятно, является показателем стрессового состояния растений, чем сильнее данные изменения проявляются, тем менее устойчиво растение к низким температурам. У сорта Никитская эти изменения носили более плавный характер, что может быть свидетельством развития адаптационного синдрома. Похожая картина наблюдалась и при исследовании активности аскорбатоксидазы. У слабоморозостойких сортов маслины изменения активности данного фермента происходили волнообразно с резкими подъемами и спадами, на фоне незначительных изменений у сорта Никитская.

Изучение активности полифенолоксидазы показало, что листья *O. europaea subsp. cuspidata* отличались максимальными значениями на протяжении всего зимнего периода, при этом данный образец маслины отличался самой низкой морозостойкостью. Однозначной связи активности полифенолоксидазы со степенью морозостойкости у остальных изученных сортов маслины не выявлено.

Результаты анализа суммарного содержания фенольных соединений в тканях листьев сортов маслины с различной степенью устойчивости к отрицательным температурам в условиях зимы 2016-2017 гг. не выявили четкой зависимости между изменением концентрации этих веществ и степени устойчивости изучаемых сортов. Для всех сортов, содержащих до понижения температуры от 639 до 697 мг/100г фенольных соединений, отмечена общая тенденция к незначительному увеличению содержания фенольных соединений в течение всего холодного периода (на 7,3-18,8 %). Существенные различия были выявлены при оценке зимней динамики концентрации флавонолов. До наступления холодного периода максимальной концентрацией флавонолов отличались сорта Никитская и Асколяно. В течение всего морозного периода отмечалось увеличение концентрации флавонолов (в 1,3-3,5 раз), причем наиболее существенно у сортов с низкой морозостойкостью. В частности, у слабоустойчивого *O. europaea subsp. cuspidata* концентрация флавонолов в тканях листьев увеличилась практически в 3,5 раза, превысив более чем в 2 раза данный показатель у Никитской.

Установлено, что концентрация пролина после первого понижения температуры увеличилась у слабойстойкого *O. europaea subsp. cuspidata* и понизилась у наиболее устойчивых сортов – Никитская и Асколяно. Для всех сортов отмечена общая тенденция к увеличению содержания пролина в конце второй декады декабря и понижению в первой декаде февраля. Выявлено, что у сортов маслины европейской в периоды существенных похолоданий уровень пролина возрастал, причем значительно у сортов с низкой устойчивостью.

## Формирование продуктивности зерновых культур в условиях точного земледелия

*Панфилова О.Ф., Беленков А.И.*

Российский государственный аграрный университет-МСХА имени К.А. Тимирязева. Тимирязевская улица, 49,  
Москва, Россия  
[Panfilova.of@yandex.ru](mailto:Panfilova.of@yandex.ru)

Одним из наиболее эффективных способов дальнейшего развития сельского хозяйства и его координации с другими сферами природопользования является внедрение прецизионных технологий, так называемого точного земледелия. Применение прецизионных технологий производства растениеводческой продукции путем научно обоснованного дифференцированного управления производственным процессом сельскохозяйственных культур с использованием дистанционных средств получения и обработки информации в сочетании с машинами и оборудованием, позволяющим в пределах поля дифференцированно осуществлять основные технологические приемы, способствует значительному повышению эффективности производства и возможности избежать негативных воздействий на растения и среду их обитания. Анализ выполненных в данной области исследований показал, что в большинстве случаев результаты информационно-технологических зарубежных разработок не подходят для почвенно-климатических условий России. Кроме того, на этапе проектирования и обоснования дифференцированных по степени интенсификации технологий возделывания сельскохозяйственных культур и при оперативном управлении их производственным процессом требуется обширная информация на уровне конкретного хозяйства. Решение этой проблемы возможно путем сопряженного анализа данных дистанционного зондирования и наземной регистрации хода производственного процесса в фиксированных точках поля определенной сельскохозяйственной культуры в сложившихся метеорологических условиях. Создание такого рода банка данных должно способствовать повышению эффективности дифференцированного внесения удобрений и средств защиты растений.

В 2007 году в рамках инновационного образовательного проекта в РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева был создан Центр точного земледелия (ЦТЗ), основными задачами которого являются отработка технологии, обучение студентов, комплексные научные исследования и внедрение результатов в практику. Центр создан на базе «колыбели» отечественной агрономии – Полевой опытной станции, которая является старейшим научно-исследовательским учреждением России.

Полевая опытная станция Университета находится в типичных для центрального региона России почвенно-климатических условиях Нечерноземной зоны. Основу ЦТЗ составляет полевой опыт по сравнительному изучению технологий точного и традиционного земледелия в рамках четырехпольного севооборота: викоовсяная смесь на корм – озимая пшеница с пожнивным посевом горчицы на сидерат – картофель – ячмень. На зерновых культурах изучаются 2 фактора – технология возделывания и приемы основной обработки почвы. Традиционная технология основана на использовании современной техники с соблюдением рекомендуемых параметров, сроков и нормативных показателей их выполнения. Из технологий точного земледелия используется посев по навигатору и дифференцированная подкормка озимой пшеницы азотными удобрениями. Изучаемые приемы обработки почвы различаются между собой по интенсивности и характеру воздействия на почву: отвальная и нулевая. 2-х кратная подкормка озимой пшеницы аммиачной селитрой в фазу весеннего кущения и налива зерна проводится путем сканирования растений по точной технологии и сплошным способом по традиционной технологии.

В ЦТЗ на основе спутниковых снимков составлены и проанализированы карты распределения биомассы на оцифрованных полях (NDVI – карты), выявлены участки с низкой вегетативной массой и определены их координаты, что явилось основой для нахождения координат взятия проб для изучения физиологических параметров растений. В фазе выхода в трубку в варианте точной технологии при отвальной обработке почвы NDVI варьировал от 0,72 до 0,91; при нулевой обработке – от 0,55 до 0,82. В варианте традиционной технологии – соответственно, от 0,45 до 0,87 и от 0,43 до 0,80. На основании распределения биомассы по полю согласно NDVI-карты для физиологических исследований достаточно взять по 3 пробы с поля в тех местах, где наблюдаются отклонения цвета. Определение физиологических параметров растений дало возможность контролировать темпы формирования биологической массы и хозяйственно полезного урожая. Определение чистой продуктивности фотосинтеза (ЧПФ) проводили по мере развития растений в 3 срока. Более высокой ЧПФ была в фазу выхода в трубку. На участках с значениями NDVI 0,8-0,9 она составляла 10-12 г/м<sup>2</sup> в сутки, при NDVI 0,4-0,5 – 6-7 г/м<sup>2</sup> в сутки не зависимо от варианта опыта. Многолетнее изучение показало, что ведущим фактором в фотосинтетической продуктивности растений является не содержание пигментов, а фотосинтезирующая поверхность, в том числе, площадь флагового листа. Варианты и неоднородность участков поля оказывают существенное влияние на этот параметр посева, который изменяется от 2,8 до 7,0 см<sup>2</sup>, то есть в 2,5 раза. Урожайность на отдельных участках поля также значительно варьирует от 3,4 до 5,2 т/га.

Сравнение прецизионных с другими высокотехнологичными технологиями получения растениеводческой продукции показывает, что они способствуют не только повышению урожайности, но и значительно уменьшают расход минеральных удобрений, тем самым позволяют снизить затраты на производство зерна и химическую нагрузку на окружающую среду.



**Анализ экспрессии генов защитных регуляторных систем растений при пектобактериозах****Парфирова О.И.\*\*\*, Губаев Р.Ф.\*, Горшков В.Ю.\*\*\*, Даминова А.Г.\*, Петрова О.Е.\*, Гоголев Ю.В.\*\*\***

\*Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, ул. Лобачевского 2/31, Казань, Россия;

\*\*Казанский федеральный университет, ул. Кремлевская 18, Казань, Россия.

[parfirovaolga.i@gmail.com](mailto:parfirovaolga.i@gmail.com)

Ключевыми регуляторами, координирующими ответы растений на инвазию патогенных организмов, являются гормональные системы, опосредуемые салициловой (СК) и жасмоновой (ЖК) кислотами, а также этиленом. В основном эти регуляторы, работа которых активируется при инфекциях, рассматриваются как индукторы устойчивости растений. Однако существуют примеры того, что индукция вышеперечисленных систем приводит к восприимчивости растений. Вероятно, это связано с тем, что системы, опосредуемые СК и ЖК/этиленом, как правило, работают в антагонизме, и поэтому в растении может активироваться только один из двух вариантов ответов. Патогенные организмы, в свою очередь, имеют разную степень чувствительности к разным защитным реакциям и могут применять обманную тактику, чтобы активировать тот тип ответов, который в наименьшей степени препятствует их развитию внутри хозяина. Такое явление убедительно продемонстрировано на примере биотрофных псевдомонад, которые синтезируют коронатин – функциональный аналог ЖК, активируя таким образом ЖК-зависимые ответы растения-хозяина и репрессировав СК-зависимые. У фитопатогенных некротрофных пектобактерий также были выявлены гены, кодирующие ряд ферментов биосинтеза коронатина, и инактивация этих генов снижала вирулентность микроорганизмов. В связи с этим, мы предположили, что пектобактерии, несмотря на «грубый» способ взаимодействия с растениями, связанный с продукцией экстраклеточных ферментов, разрушающих клетки и ткани растений, применяют и более «деликатную» обманную тактику, нацеленную на модуляцию ЖК- и СК-зависимых ответов. В наших экспериментах мы оценили активности ЖК-, СК- и этилен-зависимых гормональных систем при помощи анализа уровней экспрессии маркерных генов при выраженных и латентных инфекциях у растений табака и картофеля, а также выяснили влияние предобработки растений ЖК и СК на устойчивость растений к пектобактериям.

В качестве маркерных генов, уровень экспрессии которых свидетельствует об интенсивности работы разных гормональных систем, были выбраны следующие: кодирующий патоген-индуцируемый белок PR-1 – для СК-зависимой системы; кодирующие ферменты биосинтеза ЖК (липоксигеназу, алленоксидсинтазу и алленоксидциклазу) и белок JAZ, участвующий в передаче ЖК-сигнала – для ЖК-зависимой системы; кодирующие белки передачи этиленового сигнала (EBF1, CTR1) и этилен-регулируемый транскрипционный фактор ERF, а также гены-мишени этилен-зависимой гормональной системы (Chi, Win, CBP) – для этилен-зависимой системы. Содержание транскриптов маркерных генов оценивали относительно стабильно экспрессирующихся референсных генов, подобранных эмпирически при помощи алгоритма geNorm для используемой экспериментальной модели. Было обнаружено, что и у картофеля, и у табака в ходе типичной инфекции происходила ярко-выраженная индукция экспрессии жасмонат- и этилен-зависимых маркерных генов; при латентной инфекции содержание транскриптов этих генов либо не отличалось от такового для интактных растений, либо было значительно ниже, чем при острой инфекции. В то же время, при выраженной инфекции мы не наблюдали значительной активации экспрессии СК-регулируемого гена PR1; но при латентной инфекции содержание транскриптов этого гена возрастало. Таким образом, развитие инфекции с выраженными симптомами заболевания сопряжено с активацией ЖК/этилен-зависимых систем, что не приводит к угнетению патогенного организма *in planta*; при латентных инфекциях, когда размножения патогена подавляется, происходит индукция СК-зависимой системы.

Для подтверждения разного влияния ЖК- и СК-зависимых систем на развитие инфекционного процесса, вызванного пектобактериями, была проведена экзогенная индукция ЖК- и СК-зависимых ответов при помощи предобработки растений этими фитогормонами. Обработка растений метилжасмонатом, приводящая к активации экспрессии ЖК-индуцируемых генов, за сутки до инфицирования пектобактериями не влияла на течение заболевания: инфекция развивалась также как и у растений, необработанных фитогормоном. Внесение СК, повышающее уровень транскриптов гена PR1, подавляло развитие инфекционного процесса. При этом в области инокуляции индуцировалась реакция, напоминающая гиперчувствительный ответ – один из типов программируемой клеточной смерти, который обеспечивает элиминацию патогена и устойчивость растения.

Таким образом, нами выяснено, что различия в течение заболевания, вызванного пектобактериями, связаны с балансом ЖК/этилен- и СК-зависимых ответов. СК сдерживает развитие пектобактерий, что определяет бессимптомное взаимодействие патогена с хозяином. В свою очередь, индукция ЖК/этилен-зависимых систем при острой инфекции, по всей вероятности, приводит к конкурентному ингибированию СК-зависимых ответов, что благоприятствует активному размножению патогена в тканях хозяина.

Работа поддержана грантами РФФИ №15-14-10022 и РФФИ №14-04-01750.

**Об анаболическом действии бендазола на растения яровой пшеницы***Пахомова В.М., Даминова А.И.*Казанский государственный аграрный университет, К. Маркса, 65, Казань, Россия  
[rahomovav@mail.ru](mailto:rahomovav@mail.ru)

Ранее в модельном опыте на отсеченных корнях пшеницы нами было установлено стресс-лимитирующее и анаболическое действие бендазола (0,01 %) в связи с ограничением процессов катаболизма в процессе неспецифического адаптационного синдрома клеток (Пахомова, 1998). На основании этого было выдвинуто положение об общебиологическом адаптогенном действии этого препарата на уровне клеток различных биосистем. В исследованиях других авторов показано применение бендазола (дибазола, хлоргидрата 2-бензилбензимидазола) в качестве ростстимулирующего препарата в малых и сверхмалых дозах при прорастании семян моркови и томата (Лазарева, Бинги, 1997; Петров, 2002). В связи с этим представляло интерес изучить влияние бендазола (0,01 % раствора) на физиологические и продукционные процессы пшеницы в различные фазы вегетации с целью возможного применения этого препарата в практике растениеводства. Это и явилось целью настоящей работы.

Объект исследования – яровая пшеница сорта МиС. Полевые опыты проведены в 2010 - 2012 гг. на опытных полях Учхоза КазГАУ на серой лесной почве среднесуглинистого механического состава. Технология возделывания яровой пшеницы общепринятая для данной зоны. Урожай убирали прямым комбайнированием «Сампо-500». Учетная площадь контрольного и опытного вариантов составляла по 25 м<sup>2</sup> в 4-х повторностях. Урожайность учитывали путем поделяночного обмолота с пересчетом на 100% чистоту и стандартную влажность. Схема полевых опытов: 1 вариант – пшеница без обработки; 2 вариант – растения опрыскивались 0,01% раствором бендазола (рН 7,0) однократно в фазу кушения; 3 вариант – растения обрабатывались этим препаратом двукратно в фазах кушения и выхода в трубку; 4 вариант – растения обрабатывались трехкратно в фазах кушения, выхода в трубку и колошения-цветения. Учет густоты стояния растений в фазу полных всходов и перед уборкой определяли путем подсчета на 3-х площадках по 0,33 м<sup>2</sup> на каждом варианте; структуру урожая – методом индивидуального анализа растений пробных снопов, отобранных с постоянных площадок (по 0,33 м<sup>2</sup> в трехкратной повторности по каждому варианту); накопление углерода в листьях – мокрым сжиганием по Аликову; интенсивность дыхания листьев – манометрически в аппарате Варбурга; общее содержание воды в листьях – весовым методом после их высушивания до постоянного веса при температуре 105<sup>0</sup> С; устойчивость к полеганию – методом Аткинса-Кокостелева по отношению массы трех нижних междоузлий к их длине. Урожайность учитывали путем поделяночного обмолота с пересчетом на 100 % чистоту и стандартную влажность; количество и качество клейковины в зерне пшеницы – по ГОСТ 1356.1 – 68. Площадь флагового листа определяли методом промеров высоты и ширины основания листа с расчетом по формуле  $S=2/3 k \cdot x$ , где k – ширина основания листа и x – высота листа, S – площадь листьев в см<sup>2</sup>. Все измерения осуществляли через 7 дней после опрыскивания. Статистическая обработка данных проводилась дисперсионным методом и методом математической статистики с программным обеспечением Excel. О достоверности разницы между вариантами судили по критерию Стьюдента при уровне значимости P<sub>0,05</sub> и HCP<sub>0,5</sub>.

Установлено, что однократная обработка растений раствором бендазола в фазу кушения приводила к увеличению накопления углерода в листьях в течение всей вегетации пшеницы и их общей оводненности в фазу колошение-цветение. Одновременно регистрировалось снижение интенсивности дыхания. Двукратная обработка пшеницы в фазы кушения и выхода в трубку проявляла аналогичное действие. Трехкратное опрыскивание растений в фазу кушения, выхода в трубку и колошения - цветения кроме этих эффектов приводило к увеличению площади флагового листа, веса колоса и зерна с колоса, а также урожайности пшеницы. Увеличение урожайности и некоторых элементов структуры урожая, а также накопления углерода в листьях пшеницы свидетельствует об анаболическом действии препарата на вегетирующие растения. Обсуждаются возможные механизмы этого явления.

## Функциональное состояние растений яровой пшеницы при некорневой обработке хелатными микроудобрениями в ходе вегетации

*Пахомова В.М., Даминова А.И., Гайсин И.А.\**

Казанский государственный аграрный университет, К. Маркса, 65, Казань, Россия

\*Татарский НИИ агрохимии и почвоведения, Оренбургский тракт, 20 А, Казань, Россия

[rahomovav@mail.ru](mailto:rahomovav@mail.ru)

В течение 20 лет проведено комплексное изучение на разных уровнях организации растений (клеточно-тканевом, организменном и популяционном) в лабораторных (модельных) и полевых опытах и с применением различных методов исследования (манометрического, морфометрического, спектрофотометрического, электрофоретического, денситометрического, радиоизотопного, ВЭЖХ, пламенной фотометрии, атомно-абсорбционной спектроскопии, электронной и световой микроскопии и др.) физиолого-биохимических механизмов действия хелатных микроудобрений марки ЖУСС при некорневой подкормке яровой пшеницы. Установлено, что данные удобрения являются полифункциональными составами, проявляющими ростстимулирующее, адаптогенное, мембраностабилизирующее, регуляторное, протекторное, и др. действия. Активизация ростовых и продукционных процессов в значительной мере обусловлена изменением энергетических процессов клеток (за счет снижения дыхания поддержания и фотодыхания, стимуляции дыхания роста и фотосинтетической деятельности, в том числе и интенсивности истинного фотосинтеза), усилением активности нитратредуктазы и донорно-акцепторных отношений между органами, оптимизации водного статуса растений (снижения транспирации и увеличения водоудерживающей способности клеток), увеличения общей адсорбирующей и рабочей (деятельной) поверхности корней, зоны поглощения по отношению к общей длине корней и их поглотительной активности. Фотосинтетическая деятельность яровой пшеницы оценивалась по таким показателям, как хлорофилльный индекс, хлорофилльный фотосинтетический потенциал, ассимиляционное число и др. Зарегистрировано количественное изменение растворимых белков с молекулярной массой 94 и 145 кД и 13 - 66 кД в клетках листьев и корней. Высказано положение о том, что обработка вегетирующих растений препаратами микроэлементов может выступать в качестве абиогенных элиситоров и приводить к «включению» защитных сигнальных систем клеток. Показано, что некорневая обработка пшеницы препаратами ЖУСС приводит к обогащению вегетативной массы и зерна микроэлементами, увеличению содержания суммы незаменимых аминокислот (до 28%), снижению содержания в клетках вегетативных органов активных форм кислорода (перекиси водорода и супероксиданионрадикала), продуктов перекисного окисления липидов (малонового диальдегида), тяжелых металлов (свинца, кадмия, никеля, хрома, ртути и мышьяка) и радионуклидов (цезия и стронция), что повышает качество сельскохозяйственной продукции. Спектр запасных белков (проламина) семян пшеницы не менялся под влиянием обработки, что свидетельствует об отсутствии изменений в кодируемых областях генома при обработке растений препаратами ЖУСС. При этом не менялись и технологические показатели качества зерна (натура, стекловидность, массовая доля сырой клейковины и др.). Не наблюдалось также значительных изменений в ультраструктуре клеток листьев и корней под действием ЖУСС. Известно, что наиболее выражены не субстанциональные изменения, а изменения функциональной активности клеток под влиянием различных факторов. Установлено, что одним из наиболее выраженных эффектов ЖУСС является антистрессорный эффект (повышение общей, неспецифической устойчивости), в основе которого лежит антиоксидантное действие в связи с активизацией антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы, пероксидазы, каталазы). Максимально эффективное действие обработки вегетирующих растений препаратами ЖУСС проявляется при неблагоприятных условиях существования в связи со снижением поглотительной активности корней (в том числе при комбинированном стрессе 2010 г. вегетации в условиях засухи, повышенных температур и мглы). Установлена решающая роль четырех микроэлементов (меди, марганца, цинка и железа) в регуляции устойчивости растений в экстремальных условиях существования. Одним из механизмов повышения засухоустойчивости растений при действии ЖУСС является, по всей вероятности, оптимизация некоторых параметров водного статуса растений и метаболическими изменениями – увеличением количества ряда водорастворимых белков, увеличивающих водоудерживающую способность клеток. Статистический и дисперсионный анализы ряда морфологических параметров растений яровой пшеницы показали возрастание «выровненности» посева вследствие изменения ненаследственной (фенотипической) изменчивости признаков. Доказано, что антистрессорный эффект ЖУСС имеет пролонгированное действие (последствие), обусловленное антиоксидантным эффектом в связи с кумулятивным эффектом микроэлементов препаратов в семенах. Антиоксидантное действие ЖУСС лежит и в основе их антимутагенного эффекта.

**Экспрессия генов защитных белков в тканях картофеля при патогенезе и тепловом стрессе***Перфильева А.И.*Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН. Лермонтова ул., 132, Иркутск, Россия  
[alla.light@mail.ru](mailto:alla.light@mail.ru)

В работе исследовали изменение экспрессии БТШ101, БТШ60 и БТШ17.8 в тканях картофеля *in vitro* сорта Лукьяновский при тепловом воздействии и заражении возбудителем кольцевой гнили *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* (*Cms*). Изменение экспрессии изучено на двух уровнях: на уровне количества транскриптов и на уровне содержания белка. Исследования проводились на растениях картофеля *Solanum tuberosum* L. *in vitro* сорта Лукьяновский. Заражение картофеля осуществлялось бактерией *Cms* штамм Ас 14 05, получен из Всероссийской коллекции микроорганизмов. Для проведения экспериментов по выявлению температуры для максимального синтеза БТШ картофель *in vitro* прогревали в суховоздушном термостате 2 ч при следующих температурах: 26, 35, 37, 39, 42, 45, 50°C. После чего выделяли тотальный белок и с помощью методов электрофореза в полиакриламидном геле, вестерн-блоттинга и окраски нитроцеллюлозных мембран антителами определяли содержание БТШ101 в исследуемых образцах. Для выявления действия заражения кольцевой гнилью на накопление транскриптов генов, кодирующих БТШ и их содержание в картофеле провели серию следующих экспериментов. Растения картофеля *in vitro* заражали *Cms*, за тем после двух суток инкубации при 26°C подвергали тепловому стрессу при 39°C в течение 2 часов и анализировали изменение экспрессии белков на уровне накопления транскриптов и синтеза белка. Такое время коинкубации было выбрано потому, что в ранее проведенных исследованиях было показано, что спустя первые сутки коинкубации бактерии проникали в корневую и стеблевую зоны растений. Предварительно с целью исключения возможных ложноположительных результатов была проведена ПЦР с праймерами к исследуемым генам БТШ картофеля на матрице плазмидной и хромосомной ДНК *Cms*. Не отмечалось продуктов амплификации, что свидетельствует об отсутствии в бактериях растительных генов на которые подобраны праймеры.

На первом этапе исследований установлено, что максимальное содержание БТШ101 в растениях картофеля *in vitro* наблюдалось при термообработке 39°C в течение 2 ч. Далее нами было исследовано накопление транскриптов изучаемых генов в условиях тепловой обработки и заражения патогеном. При температуре 39°C было выявлено наибольшее накопление белка HSP101 из всех вариантов эксперимента и высокое количество транскриптов гена *HSP101*. При комбинированном воздействии на растения (вариант Б+ТШ) отмечался высокий уровень транскриптов гена, кодирующих этот белок. Для генов *HSP17.8*, *HSP101*, *HSP60*, обнаружено многократное повышение уровня транскриптов после тепловой обработки растений по сравнению с контролем (растения без тепловой обработки). Наименьшие изменения уровня транскриптов (в десятки раз) наблюдали для гена *HSP60*, наибольшие (в тысячи раз) для гена *HSP17.8*. Было выявлено, что в контроле, и при заражении растений фитопатогеном не отмечается значимого уровня экспрессии всех исследуемых генов. При совместном наложении двух стрессовых факторов (прогревание предварительно зараженных *Cms* растений) отмечалось понижение количества транскриптов гена *HSP101* в тканях картофеля. Уровень экспрессии гена *HSP60* в тканях картофеля в варианте с комбинированной обработкой был значительно ниже, чем только при тепловом воздействии. Комбинированная обработка приводила к максимальному количеству транскриптов гена *HSP17.8* по сравнению только с тепловым воздействием.

На следующем этапе исследований было проанализировано содержание анализируемых БТШ по накоплению продукта. Были получены следующие результаты по содержанию БТШ в тканях картофеля *in vitro*. В контрольных растениях картофеля сорта Лукьяновский, не подвергнутых действию теплового стресса и заражению, отмечался синтез HSP60. Тепловая обработка 39°C индуцировала синтез HSP101, HSP60 и HSP17.8 в картофеле. Заражение индуцировало синтез HSP60, в следовых количествах индуцировало синтез HSP101. Заражение растений усиливало способность растений синтезировать HSP101 при тепловом стрессе 39°C. Такое воздействие приводило также к повышению содержания HSP17.8 и индукции HSP60.

Полученные данные указывают, что биотический стресс способен модулировать защитную реакцию растений на тепловое воздействие. Это подтверждается результатами по изменению уровня экспрессии генов, кодирующих PR белки. В настоящей работе было показано, что уровень экспрессии генов *PR2* (1,3-β-глюкозидаза), *PR4* (гевеин-подобный белок) в тканях картофеля восприимчивого сорта Лукьяновский повышался при патогенезе. Так уровень экспрессии гена *PR2* при биотическом стрессе был выше, чем *PR4*. Повышение транскриптов в два-три раза для этих генов является значительным.

При комбинированном воздействии стрессовых факторов отмечалось максимальное количество транскриптов гена *PR2* и высокое содержание транскриптов гена *PR4*. Изменение количества транскриптов генов *HSP* можно связать с изменениями количества транскриптов *PR* генов. Так, при биотическом стрессе наблюдается повышение экспрессии *PR* генов, при этом экспрессия генов *HSP* ярко не выражена. При тепловом воздействии отмечается повышение экспрессии генов *HSP* и *PR*, что может объясняться повышением синтеза защитных белков в качестве неспецифического защитного ответа растений на стресс. При совместном наложении двух стрессовых факторов количество транскриптов большинства исследуемых генов *HSP* была ниже, чем при тепловом воздействии, при этом количество транскриптов *PR* генов, наоборот, повышалось. Работа поддержана грантом РФФИ 16-34-00806 мол\_а.

## Оздоровление картофеля с помощью нанокompозитов селена

Перфильева А.И., Сухов Б.Г.\*, Граскова И.А.

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН. Лермонтова ул., 132, Иркутск, Россия

\*Иркутский институт химии СО РАН. Фаворского ул., 1, Иркутск, Россия

[alla.light@mail.ru](mailto:alla.light@mail.ru)

В последние десятилетия активно применяются различные препараты для повышения устойчивости растений и увеличения урожайности культурных растений. Мониторинг фитосанитарного состояния сельскохозяйственных угодий свидетельствует о высоком инфекционном фоне. Применяемые препараты, как правило, имеют химическое происхождение, являются системными и оказывают влияние на живых обитателей почвы. Поэтому чрезвычайно актуален поиск экологически безопасных агентов для оздоровления культурных растений. Одним из перспективных направлений современной науки является направленный синтез нанокompозитов с комплексом заданных физико-химических и биологических свойств.

Цель настоящей работы – создание селен и серебросодержащих наноразмерных композитов на основе природных полимеров и изучение их влияния на фитопатогенную бактерию *Clavibacter michiganensis ssp. sepedonicus* и растения картофеля.

Нанокompозиты селена и серебра были получены в Иркутском институте химии. Нами были исследованы следующие агенты: 1) нанокompозиты селена в арабиногалактане двух типов (с содержанием селена 1.23% и 3.2%), 2) нанокompозит селена в крахмале, 3) нанокompозит серебра в арабиногалактане, 4) нанокompозит серебра в гуминовых кислотах. Нанокompозиты представляли собой водорастворимый порошок хорошо растворимый в воде и удобный в использовании. Нами были проведены исследования морфологии нанокompозитов, проведен анализ элементного состава, рентгеноструктурный анализ. Было выявлено наличие наноразмеров частиц серебра и селена в составе композитов, размер составлял 50 – 120 нм.

Биологический эффект нанокompозитов на морфологию бактерии *Clavibacter michiganensis*, вызывающей заболевание кольцевая гниль картофеля, исследовали с применением различных методов микроскопии (сканирующая, просвечивающая). Изучали влияние нанокompозитов на жизнеспособность бактерий с применением микробиологических высевок, исследовали изменение жирнокислотного состава и биопленкообразования бактерий после инкубации с нанокompозитами

В проведенных нами экспериментах было показано отсутствие негативного эффекта нанокompозитов на растения картофеля *in vitro* (изменение уровня активности пероксидазы и влияние на прирост растений), а также наличие бактерицидного эффекта исследуемых нанокompозитов на жизнеспособность бактерии.

Было выявлено, что после инкубации бактерий в течение 24 ч с каждым из исследуемых нанокompозитов было выявлено, что наночастицы селена прикреплялись к клеточной стенке бактерий, изменялась морфология клеток – они становились укороченными и утолщенными, наблюдали появление слизи вокруг клеток. Все изучаемые нанокompозиты снижали жизнеспособность бактерии, подавляли способность к биопленкообразованию.

Жирнокислотный состав бактерий существенно изменяется после обработки нанокompозитом селена (3.4% селена), смещается степень насыщенности жирных кислот. Это приводит к изменению жидкостно-кристаллических свойств клеточных мембран бактерий, что в свою очередь, может усиливать способность бактериальных клеток к агрегации, модифицировать их форму и даже приводить к разрушению клеточных мембран и гибели бактерий.

Согласно полученным результатам, мы считаем, что бактерии с помощью экзоферментов расщепляют макромолекулу в который запакованы токсичные наночастицы, которые в дальнейшем высвобождаются и прикрепляются к бактериальной клеточной стенке, меняя ее мембранную проницаемость. Такие события приводят к нарушению окислительно-восстановительного потенциала клеточной стенки бактерии, что приводит к ее разрыву, вытеканию содержимого клетки и проникновению в нее наночастиц.

Работа выполнена на оборудовании ЦКП «Биоаналитика» Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН (г. Иркутск) и с использованием коллекций ЦКП «Биоресурсный центр» Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН (г. Иркутск).

**Липидная адаптация растений Севера при осенней гипотермии***Петров К.А. \*, Дударева Л.В. \*\*, Нохсоров В.В. \*\*\*, Чепалов В.А. \*, Перк А.А. \**

\* Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН. Ленина пр., 41, Якутск, Россия;

\*\* Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН. Лермонтова ул., 132, Иркутск, Россия;

\*\*\* Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова. Белинского ул., 58, Якутск, Россия.

[kap\\_75@bk.ru](mailto:kap_75@bk.ru)

Теория поэтапного повышения криорезистентности растительного организма, разработанная в прошлом веке, явилась основой того бурного развития, которое претерпело учение о холодо- и морозоустойчивости растений в последние три-четыре десятилетия. Многочисленными исследованиями, проведенными во многих лабораториях разных стран, получены данные об увеличении содержания липидов и их полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) при экспериментальном холодовом закаливании в различных органах растений.

Как известно, современная природа Центральной и Северо-Восточной Якутии имеет позднеледниковый характер и она рассматривается как палеогеографический реликт, сохраняющийся благодаря суровым природно-климатическим условиям. До настоящего времени здесь климат, ландшафты, растительность и почвенный покров сохраняют позднеледниковые черты. Это проявляется как в характере современного холодного и резко континентального климата, так и в существовании условий жизнедеятельности растений, адаптированных к низкотемпературному стрессу при длительной осенне-зимней гипотермии. Этому способствуют благоприятные погодные условия для повышения термоустойчивости осенне-вегетирующих травянистых и покоящихся древесных растений. В период первой фазы закаливания осенью преобладающими метеорологическими элементами являются наличие большого числа ясных солнечных дней, необходимых для фотосинтеза и прохладных ночей, задерживающих расходование углеводов на дыхание. По современным представлениям, температурные границы существования растений в значительной степени обусловлены устойчивостью липидных компонентов клеточных мембран. Стабильность мембран, в свою очередь, во многом определяется содержанием и составом липидов, а также их ПНЖК. Задачей нашей работы являлось изучение количественных и качественных изменений в суммарных и полярных липидах у осенне-вегетирующих травянистых и покоящихся древесно-кустарниковых растений, проходящих закалку в естественных условиях осенних пониженных температур.

Выявлено, что при холодовой адаптации осенне-вегетирующих травянистых и древесных растений к низкотемпературному стрессу, произрастающих в условиях Центральной и Северо-Восточной Якутии, в их клетках накапливается значительное количество суммарных и полярных липидов, а также их ПНЖК, выполняющих не только энергетическую и защитную функции, но и регулирующих функциональную активность мембран.

Таким образом, липидная адаптация растений Севера, связанная с повышением содержания общих и полярных липидов и их ПНЖК, увеличением текучести мембран хлоропластов при осенней гипотермии, по-видимому, обеспечивает продление функционирования фотосинтеза в период холодового закаливания (I фаза закаливания) и завершение подготовки растений к зиме (II фаза закаливания).

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания ИБПК СО РАН (№ АААА-А17-117020110054-6).

## Влияние факторов культивирования *in vitro* на степень витрификации *Agastache foeniculum* (Pursh) Kuntze (Lamiaceae)

Поливанова О.Б., Чердниченко М.Ю.

Российский государственный аграрный университет -МСХА имени К.А. Тимирязева, ул. Тимирязевская, 49,  
Москва, Россия  
[polivanovaoks@gmail.com](mailto:polivanovaoks@gmail.com)

Витрификация является распространенным морфологическим нарушением при культивировании растений *in vitro*. У витрифицированных растений утолщенные стебли, более короткие междоузлия, полупрозрачные, ломкие, скрученные листья. Данное явление снижает эффективность клонального микроразмножения и значительно ухудшает качество посадочного материала.

Существует множество методов профилактики развития витрификации в культуре *in vitro*. Однако их применение не всегда эффективно. Это связано с тем, что некоторые методы могут применяться лишь для ограниченного числа культур. Кроме того, разные виды растений нуждаются в специфических условиях культивирования и определенном составе питательной среды. Поэтому регулирование витрификации у отдельно взятых видов растений требует индивидуального изучения.

Многоколосник фенхельный (*Agastache foeniculum* (Pursh) Kuntze) – перспективное лекарственное растение, экстракты которого обладают высокой биологической активностью и антифунгальными, антимикробными, цитотоксическими, антиоксидантными свойствами. В культуре *in vitro* *Agastache foeniculum* может использоваться с целью получения вторичных метаболитов, таких как фенольные кислоты, лигнаны, флавоноиды, стеролы, терпеноиды.

В работе рассмотрены факторы внешней среды, оказывающие наиболее существенное влияние на уровень витрификации *Agastache foeniculum* в культуре *in vitro*, такие как минеральный состав питательной среды, наличие влагопоглощающих добавок, плотность питательной среды, аэрация сосуда для культивирования. Была проанализирована связь витрификации при клональном микроразмножении с увеличением длины побега и количеством побегов, приходящимся на один эксплант, относительной влажностью растений, содержанием лигнина и пигментов.

Витрифицированные побеги *Agastache foeniculum* характеризуются отсутствием верхушечного роста, большим числом побегов, приходящимся на один эксплант, низким содержанием лигнина и пигментов. Также были отмечены изменения в микроскопическом строении листа, такие как искажение формы замыкающих клеток и нарушения в строении паренхимы.

Использование питательных сред со сниженным содержанием нитратного азота и увеличенным содержанием ионов хлора не оказывает значительного влияния на уровень витрификации у *Agastache foeniculum*.

Использование силикагеля в качестве влагопоглощающей добавки к питательной среде приводит к нарушениям в развитии растений и увеличению уровня витрификации.

Повышение плотности питательной среды посредством увеличения концентрации агара способствует снижению уровня витрификации и развитию растений нормальной морфологии.

Наиболее эффективное влияние на снижение уровня витрификации у *Agastache foeniculum* оказывает аэрация сосуда для культивирования.

## Участие дегидринов в формировании уникальной морозоустойчивости *Larix cajanderi* в условиях экстремального климата Якутии

Пономарев А.Г., Татаринова Т.Д., Перк А.А., Васильева И.В., Бубякина В.В.

Институт биологических проблем криолитозоны Сибирского отделения РАН, пр. Ленина, 41, Якутск, Саха (Якутия), Россия  
[anaronomarev@yandex.ru](mailto:anaronomarev@yandex.ru)

Лиственницу Каяндера (*Larix cajanderi* Mayr.) относят к самым морозоустойчивым видам древесных растений в мире. Она является доминирующей породой в условиях Северо-Востока Сибири, формируя здесь северную границу таежной зоны. В частности, в Якутии лиственничные леса преобладают в лесном покрове и занимают огромную территорию в 115 млн. га, что составляет более 79 % всей лесопокрытой площади и 91,5 % хвойных лесов республики. Резко континентальный климат Центральной Якутии характеризуется экстремально низкими зимними температурами в течение значительного периода времени (ниже  $-40^{\circ}\text{C}$ ) и наличием многолетней мерзлоты. В этой связи, весьма актуальным представляется изучение механизмов биохимической адаптации, способствующих формированию морозоустойчивого состояния *Larix cajanderi* в таких уникальных природно-климатических условиях.

В отличие от вечнозеленых хвойных деревьев, лиственница сбрасывает хвою на зиму, тем самым, увеличивая свою криотолерантность за счет снижения потери воды в результате зимней транспирации. Другим значимым фактором в формировании морозоустойчивости деревьев может служить экспрессия особых белков, защищающих растения от различных стрессовых воздействий, в т. ч. водного стресса, среди которых особая роль отводится дегидринам. Дегидрины – высокогидрофильные белки, содержащие Y-, S- и K-сегменты, а также последовательности, богатые глицином. Их относят к неструктурированным белкам с высокой степенью конформационной лабильности. Предполагается, что дегидрины могут участвовать в защите клеточных структур от повреждений, вызванных холодовой дегидратацией.

Целью настоящей работы явилось изучение особенностей состава и сезонных изменений дегидринов в однолетних побегах лиственницы Каяндера (*Larix cajanderi* Mayr.) в условиях криолитозоны Центральной Якутии.

В качестве объекта исследований служили однолетние (годовые) побеги растений, сбор которых проводили в 2011-2015 гг. на лесных участках в окрестностях г. Якутска ( $62^{\circ}$  с.ш.,  $129^{\circ}$  в.д.). Аналитический электрофорез и блоттинг белков осуществляли согласно принятым методикам. Идентификацию дегидринов выполняли с помощью поликлональных антител против их консервативного K-сегмента («Agriser»a, Швеция).

В данном исследовании показано, что в годичных побегах *L. cajanderi* в условиях криолитозоны обнаружены стрессовые белки-дегидрины, спектр которых охватывал значительную область мол. масс (14-42 кДа). Мажорные дегидрины лиственницы представлены белками с мол. м. 17, 18, 20, 37, 39 и 42 кДа. Несколько меньше по содержанию составляли 14, 15, 17, 18, 20 кДа, а также 73 кДа дегидрины. Кроме того, в среднемoleкулярной области 21-37 кДа отмечалось значительное разнообразие минорных изоформ (от 3 до 6), которые определяли индивидуальные качественные и количественные различия между отдельными экземплярами лиственниц, особенно в зимний период. Такое высокое разнообразие дегидринов лиственницы, превышающее таковое у изученных нами других видов древесных растений, в частности, сосны обыкновенной и березы повислой, вероятно, обусловлено особенностями их низкотемпературной адаптации в условиях экстремального климата Якутии. С целью выявления вероятной связи дегидринов с формированием морозоустойчивости лиственницы Каяндера к специфическим условиям криолитозоны было предпринято изучение их сезонной динамики. Ход сезонных изменений этих стрессовых белков в побегах *L. cajanderi* характеризовался их накоплением в период осенней подготовки растений к покою (август-сентябрь). Уровень отдельных дегидринов при этом заметно возрастал (от 3 до 22 раз) и оставался стабильно высоким в самые холодные месяцы зимы (ноябрь-март), когда отмечались наиболее низкие отрицательные температуры и морозоустойчивость растений достигала максимальных значений. Весной и в начале вегетации, по мере прогревания воздуха и с началом оттаивания мерзлотных почв весной (апрель-май), в побегах лиственницы происходило резкое снижение содержания дегидринов. При этом количество низкомолекулярных дегидринов, например 17 и 18 кДа, уменьшалось в большей степени – от 460-520 до 40-50 OD, чем среднемoleкулярных, например 37 и 39 кДа, – от 370-410 до 130-160 OD, но те и другие не исчезали полностью.

Такие особенности изменений состава дегидринов в годовом цикле лиственницы Каяндера, а также обнаруженное у них большое число изоформ и высокий уровень их внутривидового разнообразия могут указывать на важную роль этих стрессовых белков в формировании устойчивости *L. cajanderi* к экстремально низким температурам в условиях криолитозоны Якутии.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания ИБПК СО РАН (регистрационный номер АААА-А17-117020110054-6).



## Длительное культивирование *in vitro* каллуса *Crataegus orientalis* subsp. *pojarkovae* для сохранения генотипа

Попкова Л.Л.

ФГАОУ ВО "Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского" Академия биоресурсов и природопользования, Симферополь, п. Аграрное, Россия  
[ophrys97@rambler.ru](mailto:ophrys97@rambler.ru)

Сохранение биологического разнообразия, особенно редких эндемичных видов, является приоритетным направлением охраны природы в целом. Одним из эндемиков Крыма и Карадага, популяция которого находится под угрозой исчезновения, является боярышник Поярковой (*Crataegus pojarkovae* Kossyach), который в последнем чеклисте флоры Крыма (2012) рассматривается в рамках подвида *Crataegus orientalis* M. Bieb. subsp. *pojarkovae* (Kossyach) Byatt. Боярышник Поярковой внесен в «Европейский Красный список ...» (1991), глобальный Европейский список (2002), Международную Красную книгу (МСОП) и «Красную книгу Республики Крым» (2015). В последнее время при решении проблемы сохранения генофонда растений наряду с традиционными способами их размножения и сохранения *in situ* успешно используются методы биотехнологии растений, включающие микроклональное размножение и другие методы культивирования *in vitro*, в основе которых лежит уникальное свойство тотипотентности, т.е. способности растения к вегетативной регенерации из соматических клеток. Поскольку естественное возобновление популяции боярышника Поярковой крайне низкое для сохранения уникального генотипа кроме традиционных охранных мероприятий природных популяций необходимо разрабатывать методы его сохранения и культивирования на клеточном уровне. Целью данной работы являлось изучение процессов морфогенеза на различных питательных средах в длительно культивируемых каллусах боярышника Поярковой для сохранения генотипа редкого вида с последующим созданием коллекции каллусных культур.

В результате экспериментов были получены первичные каллусные культуры из вегетативно-генеративных почек, зеленых семядолей проростков, развивающихся в условиях *in vitro*, пыльников и тычиночных нитей [9, 10]. Однако каллусные культуры, полученные из генеративных органов, генетически нестабильны, в них чаще наблюдается образование гаплоидов и эмбриоидных структур. Поэтому именно каллусные культуры из вегетативных органов, в которых были обнаружены меристемоподобные клетки и ранние этапы дифференцировки, использовались для активного наращивания биомассы, длительного культивирования и экспериментов по морфогенезу. В результате экспериментов выявлено, что лучше всего каллус образовывался из вегетативных почек боярышника Поярковой на питательной среде МС-1 (1,0 мг/л 2,4-Д и 0,1 мг/л БАП). Через 11-1 суток, преимущественно на раневых поверхностях появлялся первичный каллус, представляющий собой рыхлую массу светло-зеленых клеток. После активного нарастания в течение 30-40 суток первичные каллусные культуры переносили на свежие питательные среды: МС-1, Гамборга, Кнудсона и в течение 12-36 месяцев сравнивали прирост массы каллуса, его цитоморфологические параметры, необходимость пассирования. Установлено, что для длительно культивирования хорошо подходит среда МС-1, на которой через 24 и 36 месяцев отмечалось активное нарастание каллусной массы, а в клетках каллуса наблюдались начальные этапы гистогенеза и образования эмбриоидов. Максимальный срок без пассажа – 5 лет. Также для длительного культивирования каллуса была отобрана среда Гамборга. На питательной среде по прописи Гамборга, дополненной 1,0 мг/л 2,4-Д и 0,1 мг/л БАП (В-5), отмечены процессы каллусогенеза и гистогенеза, однако через 2 года требовался пассаж на свежую среду. В качестве эксперимента небольшое количество каллуса было помещено на среду Кнудсона, дополненную активированным углем 1 мг/л. На данной питательной среде в силу низкого содержания элементов отмечено минимальное нарастание массы и размера каллуса с наличием способности к каллусогенезу очень длительное время. После перенесения каллуса с данной среды на среду МС каллус начинал активно нарастать. Максимальный срок без пассажа 10 лет, эксперимент продолжается. Исследования показали, что наибольшее влияние на процессы морфогенеза при длительном культивировании каллуса боярышника Поярковой, оказывают состав питательной среды и концентрация фитогормонов. Из испытанных нами питательных сред по прописям Мурасиге-Скуга и Гамборга для поддержания процессов морфогенеза при длительном культивировании более перспективной является среда МС-1, на которой отмечаются процессы каллусогенеза, гистогенеза и эмбриоидогенеза. Для длительного культивирования каллуса без пассажа оптимально подходит среда Кнудсона, поскольку минимальное соотношение минеральных и органических компонентов сохраняет жизнеспособность каллуса, но не дает возможности для активного наращивания массы. Таким образом, в результате проведенных исследований оптимизированы условия получения и длительного культивирования каллуса из вегетативных органов боярышника Поярковой, определены питательные среды для индукции морфогенеза в длительно культивируемом каллусе. Установлено, что для длительного беспересадочного культивирования с минимальным приростом массы и сохранением способности к каллусогенезу лучше всего подходит среда Кнудсона, дополненная активированным углем, с низким содержанием макро- и микроэлементов.

## Антагонистическая активность некоторых штаммов рода *Pseudomonas* в отношении фитопатогенных грибов

Попова А.А., Зайцева Ю.В. \*, Сидоров А.В. \*, Маракаев О.А. \*

Институт молекулярной генетики РАН, Курчатова пл., 2, Москва, Россия;

\*Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, Советская, 14, Ярославль, Россия  
[y.zaytseva@uniyar.ac.ru](mailto:y.zaytseva@uniyar.ac.ru)

Фитопатогенные грибы – возбудители опасных заболеваний растений, наносят огромный ущерб современному растениеводству. Методы борьбы с этими заболеваниями, основанные на использовании химических, в большинстве случаев токсичных, препаратов недостаточно эффективны. Широкое и часто нерегулируемое применение пестицидов приводит к загрязнению окружающей среды вследствие накопления этих веществ в почве и природных водах, наносит серьезный ущерб экологии и здоровью людей. В связи с этим в последние годы большое внимание уделяется развитию экологически чистых биологических методов борьбы с заболеваниями растений, которые основаны на использовании микроорганизмов-антагонистов. Механизм действия этих микроорганизмов на фитопатогены включает конкуренцию за питание, эффективную колонизацию ризосферы и надземных органов, синтез антибиотиков, гормонов и других стимулирующих рост растений веществ. Несмотря на все преимущества биологического метода борьбы с фитопатогенными микроорганизмами, на сегодняшний день имеется лишь небольшое количество биопрепаратов, основанных на бактериях-антагонистах. В связи с этим актуальной является задача поиска активных антагонистов фитопатогенных микроорганизмов и разработка на их основе препаратов для биологической защиты растений.

Целью работы являлось изучение антагонистической активности трех штаммов *Pseudomonas*, относящихся к видам *P. chlororaphis*, *P. brassicacearum* и *P. aeruginosa*, по отношению к фитопатогенным грибам – возбудителям наиболее опасных заболеваний растений.

Исследуемые штаммы были выделены из ризосферы пальчатокоренника пятнистого *Dactylorhiza maculata* (L.) Soo – представителя семейства Orchidaceae флоры России. Растения произрастали на территории Ярославской области в молодом злаково-разнотравном березняке с примесью ольхи на дерново-подзолистой суглинистой почве. В качестве тест-объектов использовали фитопатогенные грибы, полученные из коллекции микроорганизмов Института молекулярной генетики РАН. Для выращивания бактерий использовали агаризованную среду LB, для грибов – среду Чапека и картофельно-глюкозный агар.

Антагонистическую активность штаммов бактерий проверяли методом блоков. Суспензию спор гриба каждого вида смывали стерильной водой с колоний 10-12 суточного возраста и распределяли по поверхности питательной среды в чашках Петри. В середину чашки помещали блоки диаметром 10 мм, которые вырезали из агаризованной среды на чашках, засеянных газоном исследуемого штамма бактерий. Посевы культивировали в термостате при 30°C в течение 7 дней. Уровень антагонистической активности исследуемых штаммов оценивали по величине диаметра зоны ингибирования роста грибов вокруг блоков с бактериями.

Выявлено, что штаммы *P. chlororaphis*, *P. brassicacearum* и *P. aeruginosa* в разной степени проявляют антагонистическую активность к фитопатогенным грибам *Risootonia solani*, *Helminthosporium sativum*, *Sclerotinia sclerotiorum* и *Pyricularia oryzae* в опытах *in vitro*. Штамм *P. aeruginosa* наиболее активно подавляет рост гриба *Risootonia solani* (зона ингибирования 8-13 мм) и менее активен по отношению к *Helminthosporium sativum* (5-6 мм), *Sclerotinia sclerotiorum* (4-6 мм) и *Pyricularia oryzae* (2-3 мм). Штамм *P. chlororaphis* наибольшую антагонистическую активность проявляет по отношению к *Sclerotinia sclerotiorum* (7-13 мм), подавление роста патогенных грибов *Helminthosporium sativum*, *Sclerotinia sclerotiorum* и *Risootonia solani* более слабое (1,5-3 мм). Штамм *P. brassicacearum* проявлял антагонистическую активность только по отношению к *Helminthosporium sativum* и не ингибировал рост остальных тестируемых фитопатогенных грибов. Следует отметить, что исследуемые штаммы проявляют наибольшую антагонистическую активность при посеве на более бедную среду Чапека, которая, вероятно, сдерживает рост фитопатогенных грибов, в отличие от богатого питательными веществами картофельно-глюкозного агара. Кроме описанных эффектов, ранее нами было показано, что исследуемые штаммы рода *Pseudomonas* стимулируют процессы роста и корнеобразования растений (данные не приведены). Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования штаммов *P. chlororaphis* и *P. aeruginosa* для создания биопрепаратов для защиты растений.

**Влияние факторов среды на минеральный и CO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O-обмен разных форм *Betula pendula* Roth***Придача В.Б., Сазонова Т.А., Болондинский В.К., Новиценок Е.В., Тихова Г.П.*ФГБУН Институт леса Карельского научного центра РАН, Пушкинская ул., 11, Петрозаводск, Россия  
[pridacha@krc.karelia.ru](mailto:pridacha@krc.karelia.ru)

Представители рода *Betula* L. распространены во всех природных зонах Северного полушария с умеренным климатом. В России ими занята большая часть площади, находящейся под листовыми древесными породами. Различные условия произрастания обуславливают высокий полиморфизм фенотипических признаков представителей рода *Betula* L. Большой интерес у исследователей вызывают растения березы повислой (*Betula pendula* Roth), особенностью которой является способность образовывать две формы: обычной березы повислой с прямослойной древесиной и карельской березы (*Betula pendula* Roth var. *carelica* (Merclin) Hämet Ahti) с узорчатой древесиной. Структурные аномалии проводящих тканей, вероятно, должны проявляться на обменных процессах. В этой связи представляет интерес изучение показателей минерального и CO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O-обмена обычной березы повислой и карельской березы в широком диапазоне факторов среды.

Проведенное в условиях песчаной культуры исследование минерального состава семян берез повислой и карельской при разной обеспеченности питательной среды основными элементами минерального питания позволило выявить сходство «биологического» и «хозяйственного» оптимумов N : P : K у исследуемых форм берез. Для семян берез повислой и карельской соотношения N : P : K во внешней среде, соответствующие внутреннему оптимуму, составили 65:12:23 и 68:12:20 соответственно. Соотношение N : P : K во внешней среде, обеспечивающее максимальный рост растений, было одинаковым для исследуемых форм берез и составило 59:26:15. Анализ сезонной динамики минерального состава берез повислой и карельской в естественных условиях произрастания показал количественные различия содержания макроэлементов в листе и проводящих тканях деревьев исследуемых форм берез и большой диапазон их варьирования у карельской березы на фоне их сходной сезонной динамики.

При воздействии азотного удобрения (KNO<sub>3</sub>) были выявлены некоторые внутривидовые различия показателей CO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O-обмена листа берез повислой и карельской. В контроле более высокие значения устьичной проводимости ( $g_s$ ), интенсивности фотосинтеза ( $A$ ) и транспирации листа ( $E$ ), водного потенциала ( $\Psi$ ) отмечены для березы повислой по сравнению с карельской березой; и близкие значения содержания воды ( $WC_f$ ), дефицита водного насыщения ( $WSD$ ), фотосинтетической эффективности использования воды ( $WUE$ ) и эффективности использования азота ( $NUE$ ) исследуемых форм берез. В опыте при внесении высокой дозы нитратов установлено снижение всех исследуемых показателей как у березы повислой, так и у карельской березы. При этом большие изменения значений  $E$ ,  $\Psi$ ,  $WSD$  и  $WUE$  были отмечены для карельской березы по сравнению с березой повислой, что может свидетельствовать о различиях в напряженности водообмена исследуемых берез вследствие внутривидовых особенностей структуры проводящих тканей ствола дерева.

Сопоставление суточной и сезонной динамики водного потенциала ( $\Psi$ ) облиственных побегов двух форм берез в зависимости от температуры ( $T$ ) и относительной влажности воздуха ( $RH$ ) позволило выявить однонаправленные изменения, но разную степень влияния исследуемых факторов на  $\Psi$  берез повислой и карельской. При увеличении  $T$  на 1°C показано одинаковое снижение величины  $\Psi$  на 0.037–0.038 МПа у обеих берез. При суточном диапазоне  $T$ , достигающем 10–15°C, вклад этого фактора в изменение  $\Psi$  побегов берез может достигать 0.57 МПа. Величина  $RH$ , по сравнению с  $T$ , претерпевает за сутки большие изменения, диапазон которых может составлять до 30% между предрассветными и полуденными значениями. Установлено значимое различие вклада  $RH$  в формирование величины  $\Psi$  исследуемых берез: изменение значений  $\Psi$  облиственных побегов берез повислой и карельской достигает 0.46 (0.015 МПа / 1% RH) и 0.52 МПа (0.017 МПа / 1% RH) соответственно. Очевидно, карельская береза реагирует на увеличение  $RH$  большим увеличением  $\Psi$  по сравнению с березой повислой.

Анализ параметров углекислотной кривой CO<sub>2</sub>-газообмена показал близость значений у исследуемых форм берез скорости транспорта электронов при световом насыщении ( $J_{max}$ ), скорости утилизации триозофосфатов (TPU) и скорости темного дыхания ( $R_d$ ). Однако сравнение максимальной скорости карбоксилирования ( $V_{Cmax}$ ) выявило максимальные значения показателя у карельской березы по сравнению с березой повислой, значения которой были меньше на 9% соответственно. Высокие значения  $V_{Cmax}$  листа карельской березы могли бы обеспечить потенциально максимальную интенсивность фотосинтеза по сравнению с таковой у березы повислой, что ранее было подтверждено нашими исследованиями процесса фотосинтеза берез повислой и карельской в условиях затенения. В частности, было показано двукратное снижение значений светового компенсационного пункта у карельской березы по сравнению с березой повислой, что позволяло ей поглощать CO<sub>2</sub> при очень низких значениях ФАР, тогда как у березы повислой при данных условиях освещения отмечали уже выделение CO<sub>2</sub>. Факт высоких значений  $V_{Cmax}$  объясняет механизм адаптации фотосинтетического аппарата карельской березы к условиям пониженной освещенности.

Работа выполнена в рамках государственного задания ИЛ КарНЦ РАН (проект № 0220-2014-0010) и при частичной финансовой поддержке РФФИ (грант 17-04-01087-а).

**Метаболическая специфичность вегетативных и генеративных органов картофеля***Пузанский Р.К. \*, Гавриленко Т.А. \*\*, Шаварда А.Л. \*\*\*, Шишова М.Ф. \**

\* Санкт-Петербургский Государственный Университет, Университетская наб., 7/9, Санкт-Петербург Россия;

\*\* Всероссийский институт растениеводства им. Н. И. Вавилова, Большая Морская ул., 42-44, Санкт-Петербург Россия;

\*\*\* Ботанический институт им. В.Л. Комарова Профессора Попова ул., 2, Санкт-Петербург Россия.

[puzansky@yandex.ru](mailto:puzansky@yandex.ru)

Картофель – сельскохозяйственная культура, которая культивируется в более чем в ста странах, уступая по важности для производства пищи только кукурузе, рису и пшенице. Бурное развитие метаболизма, как составной части системного изучения растения, имеет не только теоретическое, но и прикладное значение, т.к. ее результаты могут быть использованы в развитии сельского хозяйства, пищевой и фармацевтической промышленности. Метаболическое профилирование было использовано в данной работе для сравнения различных органов *Solanum tuberosum*: генеративных органов на разных стадиях созревания пыльников (премейотические, мейотические, постмейотические и зрелые), листьев («молодых» – над первой кистью и «старых» – 4-5 ярус ниже первого соцветия) и клубней (кожицы и мякоти). Экстракцию проводили 80% метанолом. Для профилирования применяли метод ГХ-МС с использованием хроматографа Agilent 5860 с масс-спектрометром Agilent 5975. Квантирование осуществляли по площадям пиков полного ионного тока методом внутреннего стандарта. Идентификацию проводили с использованием AMDIS и баз NIST и GMD. Математический анализ проводили в среде языка R 3.3.1.

Полученный метаболитный профиль (МП) включал 240 метаболитов, из которых было идентифицировано 140. Сахара, органические и аминокислоты – наиболее широко представлены в метаболомах тканей картофеля. Однако проанализированные соединения демонстрировали сложный паттерн органоспецифичности. Кластеризация несколькими методами (PCA, LLE, Isomap, Random Forest) показала, что МП группируются согласно принадлежности к органу. Показано, что зрелые пыльники обладают резким отличием от незрелых. Четкие различия выявлены между кожицей и мякотью клубней, «старыми» и «молодыми» листьями, причем последние сближались с незрелыми пыльниками.

Для выявления особенностей профилей листьев, клубней и генеративных органов мы провели классификацию методом PLS-DA. Высокая связь с различиями классов была характерна для аминокислот: аспарагина, аргинина, валина, лейцина, глицина; карбоксилатов: 2-кетоглутарата, глицерата, пирувата, малоната, лактата; сахаров: глюкозы и фруктозы, а также для соединений вторичного метаболизма: кофейной, хлорогеновой и хинной кислот. PLS-DA классификация метаболитных профилей генеративных органов на разных стадиях созревания пыльцы выявила, что PC1, описывающая 51% дисперсии, связана исключительно с отличиями зрелых пыльников, а две другие (33% дисперсии) с различиями незрелых. Значения факторных нагрузок PC1 показали, что отличия зрелых пыльников, прежде всего, связаны с большим содержанием аминокислот: глутамата, тирозина, валина, глицина, триптофана, лейцина, карбоксилатов: шикимата, малата, глицерата, сахаров в том числе, глюкозы, вторичных метаболитов: кверцетина, циклоартенола, хлорогеновой и кофейной кислот. С различиями незрелых пыльников связаны аминокислоты: аспарагин, цистеин, лизин, глутамин, пролин, аланин, гидроксипролин, кислоты: цитрат, аконитат, сукцинат, лактат, пируват и сахара.

Классификация метаболитных профилей кожицы и мякоти клубней с помощью OPLS-DA позволила построить модель, предиктивная компонента которой описывала 68% дисперсии. Значения факторных нагрузок показали, что для мякоти клубней характерно большее содержание аминокислот: метионина, серина, лизина, валина, аланина, лейцина, пролина, глутамата, аспарагина, треонина, карбоксилатов: сукцината, глицерата, аконитата, fumarата, сахаров: глюкозы, рибозы, сахарозы. Большее содержание в кожице показано для некоторых жирных кислот, а также стеролов, многих вторичных метаболитов: циклоартенола, кверцетина, хлорогеновой и хинной кислот, а также карбоксилатов: оксолата, лактата, малоната. OPLS-DA моделирование различий «молодых» и «старых» листьев показало, что с возрастом (положением) листа связано 75% дисперсии. Большая часть метаболитов имела более высокое содержание в «молодых» листьях. Среди них аминокислоты: аспартат, валин, глутамин, аспарагин, пролин, триптофан, аланин, метионин, лейцин, треонин, карбоновые кислоты: аконитат, шикимат, цитрат, пируват, лактат, сахара: глюкоза, рибоза, вторичные метаболиты: калистегин, кверцетин, хинная и хлорогеновая кислоты. В «старых» листьях было отмечено большее содержание жирных кислот, кампестерола, кофейной кислоты, путресцина и галактозы.

Работа выполнена при поддержке грантов: РФФИ № 16-16-04125.

## Анализ метаболома растений люцерны и гороха

Пузанский Р.К. \*, Юрков А.П. \*\*, Штарк О.Ю. \*\*, Шаварда А.Л. \*\*\*, Шишова М.Ф. \*

\* Санкт-Петербургский Государственный Университет, Университетская наб., 7/9, Санкт-Петербург Россия;

\*\* Институт Сельскохозяйственной Микробиологии, ш. Подбельского, 3, г. Пушкин, Санкт-Петербург Россия;

\*\*\* Ботанический институт им. В.Л. Комарова Профессора Попова ул., 2, Санкт-Петербург Россия.

[mshishova@mail.ru](mailto:mshishova@mail.ru)

Горох посевной и люцерна хмелевидная относятся к группе бобовых растений и имеют важнейшее сельскохозяйственное значение. Представители родов Горох (*Pisum* L.) и Люцерна (*Medicago* L.) являются одними из основных кормовых культур во многих странах мира. Столь высокая ценность обусловлена высоким содержанием белка в семенах и зеленой массе. Оба растения отличаются и меньшей зависимостью от азотных и фосфорных удобрений, так как способны к формированию симбиозов с азотофиксирующими бактериями и грибами арбускулярной микоризы, что в значительной степени снижает экономические затраты. Тем не менее, очень мало данных об изменении метаболизма растений в зависимости от интенсивности развития симбиоза. Интенсивное развитие метаболизма – нового направления системной биологии, может иметь приоритетное значение в определении метаболических перестроек в растении-хозяине.

Число метаболомных исследований, проведенных на горохе посевном и люцерне хмелевидной, очень ограничено. В связи с этим данная работа была начата со сравнения различных систем пробоподготовки, для получения наиболее полных метаболических спектров. Для экстракции нами были использованы метанол и 2 смеси: метанол/хлороформ/вода и ацетонитрил/изопропанол/вода. Для профилирования применяли метод ГХ-МС с использованием хроматографа Agilent 5860 с масс-спектрометром Agilent 5975. Квантирование осуществляли по площадям пиков полного ионного тока методом внутреннего стандарта. Идентификацию проводили с использованием AMDIS и баз NIST и GMD. Математический анализ проводили в среде языка R 3.3.1.

Проведенный анализ показал, что как для растений гороха, так и люцерны наиболее полная экстракция была получена с помощью смеси метанол/хлороформ/вода. Эта система обеспечивала наиболее полную представленность как полярных, так и неполярных соединений. Она была применена для последующего метаболического профилирования побегов и корней гороха и люцерны. Показано, что метаболитный профиль гороха включал более 200 метаболитов, из которых было идентифицировано 140. В то время как метаболитный профиль люцерны был несколько обеднен и составил около 150 соединений. В обоих случаях наибольшие различия наблюдались в группах сахаров, органических и аминокислот. Последующее сравнение метаболомов корней и листьев выявило для каждого из растений органоспецифичность спектра метаболитов.

Работа выполнена при поддержке гранта СПбГУ 1.37.534.2016.

## Регуляция мембранных процессов у *Solanum tuberosum* в зависимости от структурного состояния элементов цитоскелета

Пузина Т.И., Макеева И.Ю., Власова Н.С., Ланцев В.Л.

ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева», ул. Комсомольская, 95, Орел,  
Россия  
[tipuzina@gmail.com](mailto:tipuzina@gmail.com)

Элементы цитоскелета взаимодействуют не только друг с другом через ассоциированные белки, но и с мембранами. Однако, несмотря на признание существования цитоскелетмембранного комплекса, сведения об участии цитоскелета в регуляции мембранных процессов остаются единичными. Имеются лишь указания, что антискелетные агенты оказывают действие на электрон-транспортную цепь дыхания растений, а также предполагается, что водопроницаемость мембран находится под цитоскелетным контролем. Целью исследования было изучить ход некоторых мембранных процессов (фотохимическую активность хлоропластов, процесс фотофосфорилирования, транспорт воды через аквапорины) в зависимости от целостности тубулинового и актинового цитоскелета, а также наметить пути их регуляции. Объектом исследования служили растения картофеля сорта Удача, выращенные в почвенной культуре в сосуде с 10 кг серой лесной среднесуглинистой почвы на агробиостанции Орловского госуниверситета. Выявлено, что обработка растений картофеля через 15 суток после появления всходов антимиотрубочковым агентом колхицином (1 мМ) и деполимеризатором актинового цитоскелета цитохалазином Б (0.1 м) отрицательно повлияла на световые реакции фотосинтеза. Деструкция тубулинового цитоскелета почти в два раза снизила фотохимическую активность хлоропластов, рассчитанную по восстановлению феррицианида калия. В этих условиях антиоксидант селен (5.8 мкМ)  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  и кофейная кислота (0.1 мМ) способствовали некоторому восстановлению процесса фотохимической активности хлоропластов. В большей степени это было характерно для варианта с кофейной кислотой. Возможно, положительное действие селенит-йонов и кофейной кислоты связано с увеличением эндогенного уровня ауксинов, что ранее показано нами. Тогда как колхицин уменьшал содержание данного фитогормона. Известно, что ауксины ускоряют поток электронов в электрон-транспортных цепях. Нарушение целостности актиновых филаментов существенно инактивировало процесс нециклического фотофосфорилирования. При этом экзогенная ИУК (0.01 мМ) более чем на 50% восстанавливала процесс синтеза АТФ в хлоропластах. К деструкции микротрубочек был чувствителен трансмембранный поток воды через аквапорины, который определяли, используя 100 мкМ раствор  $\text{HgCl}_2$  – блокатор аквапориновых белков. В варианте с колхицином транспорт воды через водные каналы составил лишь 13%, тогда как в контрольном варианте – 48%. По-видимому, это связано с нарушением встраивания аквапоринов в мембраны. Известно, что микротрубочки направляют везикулы с данными белками к мембранам. Селенит-йоны уменьшали отрицательный эффект колхицина. Поток воды через аквапорины, в данном случае, составил 26%. Таким образом, оструктуренность элементов цитоскелета имеет значение как в световых реакциях фотосинтеза, происходящих на мембранах хлоропластов, так и в трансмембранном потоке воды через аквапорины. Антиоксидант селен, кофейная и индолилуксусная кислота уменьшают негативное действие антискелетных агентов (колхицина и цитохалазина Б) на интенсивность изученных мембранных процессов.

## Соотношение потоков алюминия, калия и азота у двух сортов гречихи

*Пухальская Н.В., Сафронова Н.М.\**

ВНИИ Агрохимии им. Д.Н. Прянишникова. Ул.Прянишникова д. 31А, Москва, Россия;

\*Кокшетауский государственный университет им.Ш.Уалиханова. ул.Абая, 76, Кокшетау, Казахстан  
[n-v-pooch@ya.ru](mailto:n-v-pooch@ya.ru); [safronat@rambler.ru](mailto:safronat@rambler.ru)

Гречиха относится к культурам, которые достаточно толерантно переносят присутствие ионов алюминия в почве. При этом степень негативного влияния ионов алюминия на гречихе мало исследована. Между тем, накопления алюминия в товарно-ценных частях растений представляет потенциальную опасность. В связи с этим была поставлена цель – изучить накопление алюминия в растениях при изменениях в минеральном питании на почвах, содержащих некоторое количество этого металла.

Исследования проводились с двумя сортами гречихи посевной (*Fagopyrum esculentum* Moench.): Инзерская и Девятка. Оба сорта являются крупноплодными, среднеспелыми, но для сорта Инзерская характерен индетерминантный тип роста, а сорт Девятка детерминантного морфотипа.

В вегетационных экспериментах использовались сосуды с небольшим объемом почвы – 500 г. Это ограничивало рост корней, поэтому исключался известный эффект адаптации растений к стрессу – усиленное развитие корневой системы. Изучалось действие азота и алюминия на фоне калия. Создавались варианты: калий, калий-алюминий, калий-азот, калий-азот-алюминий. У основного (фонового) варианта вносилось 50 мг калия на 100 г почвы в форме хлорида калия, доза алюминия (хлорид алюминия) составила 4 мг/100 г почвы, доза азота – 50 мг/100 г почвы в виде нитрата аммония. Опыты заканчивались с началом фазы цветения растений. По окончании эксперимента измерялась сухая масса растений по органам, а также содержание калия.

Было установлено, что хотя внесение азота (на фоне калия) приводило к значительному увеличению накопления сухой массы растениями у обоих сортов, в тоже время в ее распределении между органами наблюдалась сортовая специфика. Так, масса стебля у сорта Инзерская возрастала в 4,2 раза в присутствии азота, тогда как у сорта Девятка – в 2,9 раза. Масса нижних листьев у сорта Девятка к моменту завершения эксперимента была выше массы верхних на 37,4%, а у первого сорта она, напротив, была ниже на 63,5%.

В реакции растений на алюминий также наблюдались сортовые различия. При внесении алюминия на фоне только калия у сорта Инзерская подавлялось накопление сухой биомассы всех органов, и особенно стебля, на 33,5% по сравнению с фоновым вариантом. В то время как у второго сорта наблюдалось только перераспределение биомассы между органами, возрастала доля верхних листьев (на 26%) и снижалась доля стебля (на 21%). Таким образом токсичное действие алюминия в присутствии калия, но отсутствии азота определялось сортовой спецификой и слабее проявлялось при более низкой интенсивности ростовых процессов.

На почве, содержащей все три элемента (калий, азот и алюминий), у растений сорта Инзерская сухая биомасса изменялась незначительно по отношению к варианту без алюминия. Тогда как у сорта Девятка этот показатель снижался и наиболее значительно у листьев, на 23,5-27,5 %.

В присутствии азота содержание калия в органах гречихи значительно возрастало, наиболее существенно в стебле и верхних листьях. Причем на субстрате, содержащем только калий, в нижних листьях растений концентрация элемента была выше, чем в верхних у обоих вариантов. С внесением азота в верхних листьях его содержание возросло в 4,2 и 7,9 раза у сорта Инзерская и Девятка соответственно и стало превышать этот показатель в нижнем ярусе.

Действие алюминия на поток калия на безазотном субстрате было сортоспецифичным. У сорта Девятка содержание калия падало во всех органах, тогда как у сорта Изерская отмечалось перераспределение потока: в листьях этот показатель увеличивался, а в стебле снижался.

Алюминий существенно тормозит поступление калия в растения. Не отмечалось увеличения содержания калия в стеблевой части по сравнению с вариантом без азота и алюминия и по сравнению с вариантом с калием и алюминием в почве. В верхних листьях концентрация элемента возрастала, а в нижнем ярусе снижалась.

Предполагается, что без азота калий пассивно поступает в растение и потребляется и накапливается в основном фотосинтезирующими органами – листьями. Влияние алюминия (в присутствии N) проявляется в ослаблении общего потока калия по растению и повышению накопления калия в нижних листьях. Азот оказывал стимулирующее действие на рост растений: более молодые верхние листья становились аттрагирующими центрами. В соответствии с этим увеличивается и отток калия необходимого для многих синтетических процессов из стебля и из менее активных нижних листьев. При дефиците же азота не востребуемый калий остается в нижних листьях.

## **АБК в мутантах *spms 1-1 Arabidopsis thaliana***

**Ракитин В.Ю., Ракитина Т.Я., Карягин В.В., Прудникова О.Н.**

ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева РАН; ул. Ботаническая 35, 127276, Москва; тел (495)9779245, факс (495)9778018  
[rakit@ippras.ru](mailto:rakit@ippras.ru)

Нами было установлено, что УФ-В радиация вызывает в растениях *A. thaliana* торможение роста, увеличение синтеза стрессовых гормонов этилена и АБК, а также путресцина – предшественника высших полиаминов спермидина и спермина.

Эффективность защитного действия полиаминов (ПА) пропорциональна количеству аминогрупп в молекуле, поэтому успешное функционирование антиоксидантной защиты в первую очередь зависит от регуляции гомеостатического уровня спермидина (Spd) и спермина (Spm) при котором растения готовы инактивировать АФК сразу после воздействия биогенных и абиогенных стрессоров, до активации синтеза самих ПА и индуцибельных антиоксидантных энзимов

Изучали гормональные аспекты адаптации к УФ-В радиации растений *spms-1-1 Arabidopsis thaliana*, дефицитных по синтезу полиаминов (ПА). По фенотипу мутантные растения сходны с растениями дикого типа. Содержание свободного и конъюгированного спермина у растений *spms1-1* составляет соответственно 5,8 и 3,4% от такового *wt*.

Использовали ингибитор синтеза АБК – флуридон – для демонстрации влияния образующейся при УФ-В стрессе АБК на содержание полиаминов и устойчивость растений *Arabidopsis thaliana spms-1-1*. Обнаружено, что содержание абсцизовой кислоты (АБК) в растениях *spms-1-1* без стресса сравнимо таковым у растений дикого типа. Установлено, что активация образующимся при УФ-В стрессе этиленом этиленового сигнального пути у растений *spms-1-1* приводила к дозозависимому увеличению накопления АБК и увеличению синтеза Spd. Предварительная обработка растений ингибитором синтеза АБК (флуридоном) уменьшала устойчивость растений, но не влияла на изменение содержания ПА, вызванное УФ-В стрессом. Полученные данные показывают, что в растениях *spms1-1* АБК и ПА независимо друг от друга принимают участие в адаптации к УФ-В радиации.



## Активность генов стеринового биосинтеза в проростках пшеницы в условиях абиотического стресса

Ренкова А.Г. \*, Валитова Ю.Н. \*, Минибаева Ф.В. \*\*\*

\* Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН. Лобачевского ул., 2, Казань, Россия;

\*\* Казанский (Приволжский) федеральный университет. Кремлевская ул., 18, Казань, Россия.  
[sulkarnayeva@gmail.com](mailto:sulkarnayeva@gmail.com)

Растения обладают богатым разнообразием стеринных и их производных. Ферменты стеринового биосинтеза служат «хабом» для синтеза соединений, обладающих рост-регулирующими и защитными свойствами. Изменения активности этих ферментов меняет профиль изопреноидных соединений, в том числе путем изменения соотношения молекулярных видов стеринных, а также соотношения между стеринами и другими липидами. Стерины растений отличаются друг от друга наличием метильной или этильной группы в боковой цепи при 24-ом атоме углерода, и в зависимости от этого они называются метил- или этилстеринами. Соотношение между метил- и этилстеринами является специфичным для отдельного вида растений. Большое разнообразие стеринных обеспечивается боковой цепью при 17-ом атоме углерода. К основным ферментам, модифицирующим боковую цепь стеринных, относятся С24-стерин метилтрансферазы (SMT) и С22-стерин десатураза (CYP710A). SMT является ключевым ферментом биосинтеза растительных стеринных, от функционирования которого зависит оптимальный баланс молекулярных видов стеринных в растении при онтогенезе и действии стрессовых факторов. Наличие SMT характерно только для растений, в связи с чем, этот фермент вызывает повышенный интерес при исследовании биосинтеза растительных стеринных. Известно существование двух типов SMT – SMT1 и SMT2, участвующих в первичном и во вторичном метилировании. Эти изоформы SMT отличаются субстратной специфичностью, конечными продуктами и кинетикой реакции. Нами обнаружены три гомеологичные гены *SMT* пшеницы и проанализированы изменения профиля их экспрессии. Анализ активности генов *TaSMT1* и *TaSMT2* показал, что абиотические стрессовые факторы, в том числе холод, раневый стресс, а также стрессовые гормоны метилжасмонат, салициловая кислота, индуцируют дифференциальную экспрессию *SMT* в проростках пшеницы. Выявлен органо-специфичный характер этих стресс-индуцированных изменений экспрессии генов. Для характеристики особенности регуляции экспрессии генов *TaSMT1* нами были секвенированы промоторные последовательности генов *TaSMT1*, анализ которых выявил наличие стресс-чувствительных *cis*-элементов. С22-стерин десатураза – фермент, осуществляющий превращение  $\beta$ -ситостерина в стигмастерин. Стигмастерин у большинства высших растений и эргостерин у грибов и некоторых водорослей обладают двойной связью при С22. Эта двойная связь образуется в результате реакции десатурации, являющейся заключительным этапом биосинтеза стеринных растений. Соотношение стигмастерина и  $\beta$ -ситостерина в мембране может влиять на ответ растительных клеток на различные биотические и абиотические стрессовые воздействия. Высокое содержание стигмастерина в плазматической мембране может изменять ее текучесть и проницаемость и ограничивать, тем самым, выход веществ в апопласт. В последние годы появилась информация о том, что стигмастерин является «стрессовым стеринном». Так, нами показано изменения активности генов *TaCYP710A8* пшеницы в условиях воздействия на проростки пшеницы холода, раневого стресса, метилжасмоната, салициловой кислоты, абсцизовой кислоты. Наши данные свидетельствуют о важной роли активности генов стеринового биосинтеза в устойчивости растений пшеницы к стрессовым воздействиям. Наличие гомеологичных генов стеринового биосинтеза в полиплоидных растениях обеспечивает разнообразие эпигенетических механизмов стерин-опосредованных стрессовых ответов растений.

Работа поддержана грантами РФФИ (№№ 16-04-00676, 17-04-01562).

## Физиолого-биохимические аспекты токсического действия нитрата свинца на прорастание семян *Triticum aestivum* L. сорта Куяльник

Решетник Г.В., Задиранова Н.С., Зайченко О.С.

Таврическая академия Крымского федерального университета имени В.И.Вернадского, проспект Вернадского, 4, Симферополь, Крым, Россия  
[gyresh@ukr.net](mailto:gyresh@ukr.net)

Проблема загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами становится актуальной и усугубляется тем, что данные поллютанты не разлагаются, аккумулируются и содержание их в среде со временем все возрастает. Наиболее токсичным среди них считается свинец и кадмий. К основным источникам антропогенного загрязнения агроценозов соединениями свинца относят химизацию сельскохозяйственного производства, отходы промышленных предприятий и автотранспорта. Свинец относится к I классу опасности по классификации Международного комитета по проблемам окружающей среды. Основные сельскохозяйственные угодья полуострова сосредоточены вдоль автострад, что сказывается на аккумуляции тяжелых металлов в почве, следствием чего является снижение урожайности.

Реакция растений в условиях интоксикации свинцом проявляется в виде изменений физиолого-биохимических процессов в клетке и формированием механизмов устойчивости к стрессовым условиям.

Целью нашего исследования было изучение влияния различных концентраций нитрата свинца на физиологические процессы прорастания семян *Triticum aestivum* L. сорта Куяльник. Во время эксперимента изучали степень набухания семян пшеницы по методике У.Руге в изложении О.А.Вальтера, энергию прорастания определяли на 3 сутки, а всхожесть - на 7 согласно ГОСТу 12038-84, активность каталазы изучали газометрическим методом, а пероксидазы – колориметрическим методом (по Бояркину). Семена проращивали на фильтровальной бумаге в кюветках с добавлением возрастающих концентраций нитрата свинца ( $10^{-1}$ – $10^{-5}$ М). Полученные данные обработаны с помощью методов математической статистики.

Изучая влияние нитрата свинца на степень набухания установили, что водопоступление в семена пшеницы характеризуется наличием классической S-образной кривой набухания. Интенсивное набухание по всем вариантам опыта отмечалось за первые 10 часов намачивания семян. Уровень оводненности семян снижается с увеличением количества свинца в среде произрастания. Максимальная концентрация нитрата свинца ( $10^{-2}$ М) снижает степень набухания семян в целом на 17,7%, а  $10^{-3}$ М – на 14,7%. Степень набухания семян в варианте с концентрацией нитрата свинца  $10^{-4}$ М и  $10^{-5}$ М достоверно не отличается от значений в контрольном варианте. Следует отметить, что к 24 часам опыта во всех вариантах наблюдается снижение скорости поступления воды в семена.

Всхожесть и энергия прорастания – самые важные показатели посевных качеств семян. Под действием нитрата свинца процент проросших семян снижался прямо пропорционально увеличению концентрации металла. Так, концентрация  $10^{-1}$ М полностью ингибировала прорастание зерновок пшеницы, а  $10^{-2}$ М снижала энергию прорастания на 37% по сравнению с контролем, всхожесть – на 29%. Следует отметить, что энергия прорастания и всхожесть семян при минимальной концентрации металла в среде идентичны контрольным значениям. Предполагаем, что высокие концентрации нитрата свинца действовали на процессы деления и растяжения клеток зародыша, тем самым задерживая начало прорастания семян.

Причиной изменения физиолого-биохимических процессов в растительном организме при действии тяжелых металлов является избыточное содержание активных форм кислорода, в обезвреживании которых участвуют антиоксидантные ферменты.

Активность каталазы прорастающих семян пшеницы за первые сутки прорастания во всех вариантах опыта повышена по сравнению с контролем. На третьи сутки активность фермента существенно понижается. В вариантах опыта с концентрацией нитрата свинца  $10^{-3}$ М и  $10^{-2}$ М активность каталазы уменьшается в среднем в 3,5 раза по сравнению с контролем, т.е. при сильном стрессе ферментная система ослабевает.

Активность пероксидазы на протяжении времени проращивания семян была ниже контрольных показаний. За первые сутки прорастания семян активность фермента ингибировалась в среднем на 27% по сравнению с контролем. На вторые сутки продолжалось снижения активности пероксидазы. На третьи сутки активность фермента повысилась по отношению к предыдущим суткам. При максимальных дозах металла ( $10^{-2}$ - $10^{-3}$ М) активность пероксидазы достоверно не повысилась по отношению к показаниям второго дня, а при максимальных концентрациях ( $10^{-4}$ - $10^{-5}$ М) повышение составило в среднем 25%. Максимальные концентрации свинца на третьи сутки прорастания семян *Triticum aestivum* L. сорта Куяльник ингибируют активность как каталазы, так и пероксидазы в среднем на 70 % по отношению к контролю. Ингибирующее влияние свинца на активность ферментов обусловлено как прямым связыванием с функциональными SH-группами белков, так и со способностью замещать ионы металлов в активных центрах ключевых ферментов.

Таким образом, в ходе проведенных исследований было обнаружено, что действия нитрата свинца на физиолого-биохимические процессы прорастания семян *Triticum aestivum* L. сорта Куяльник зависело от концентрации металла в среде. Максимальное содержание металла в среде ( $10^{-2}$ М) снижала степень набухания семян в среднем на 18 %, энергию прорастания на 37 %, всхожесть - на 29 % по сравнению с контролем.

## Эффективность предпосевной обработки семян *Cucumis sativus* L. препаратом Эпин экстра на фоне действия ацетата кадмия

Решетник Г.В., Сысолятин Д.С.

Таврическая академия Крымского федерального университета имени В.И.Вернадского, проспект Вернадского, 4, Симферополь, Крым, Россия  
[gyresh@ukr.net](mailto:gyresh@ukr.net)

Загрязнение окружающей среды тяжелыми металлами - важный экологический стрессовый фактор. Проникая в избытке в растительный организм, тяжелые металлы затрудняют метаболические процессы, подавляют развитие растений, снижают продуктивность, ухудшают качество продукции.

Среди тяжелых металлов одним из наиболее токсичных для всех живых организмов считается кадмий. Загрязнение этим металлом происходит вследствие применения высоких доз фосфатных удобрений и гербицидов, осадков сточных вод, в виде галогенидов и оксидов этих металлов, которые содержатся в выхлопных газах автомобилей, в составе отходов, образующихся при добыче и переработке отработанных аккумуляторных батарей. Кадмий обладает миграционной способностью, высокой растворимостью и подвижностью. Опасность кадмия усугубляется еще и тем, что он накапливается в растении и сохраняет токсические свойства в течение длительного времени.

Одним из возможных путей снижения содержания тяжелых металлов в сельскохозяйственной продукции может быть обработка регуляторами роста.

Поступление питательных веществ, а вместе с ними и токсических элементов, начинается одновременно с началом роста растения, а значит, и применение регуляторов роста необходимо начинать ещё в момент, когда растение находится в зародышевом состоянии, т.е. с предпосевной обработки семян. Этот прием способствует повышению всхожести, энергии прорастания, усилению ростовых процессов и устойчивости к различным заболеваниям.

Ключевую роль в повышении металлоустойчивости растений играют фитогормоны стероидной природы – брассиностероиды, представителем которых является препарат Эпин экстра. Препарат стимулирует выработку самим растением тех гормонов, которые ему необходимы на каждом этапе развития. Эпин Экстра подавляет процесс накопления в растениях тяжелых металлов и радионуклидов, способствует детоксикации растениями пестицидов.

Целью нашего исследования было изучение влияния препарата Эпин экстра на прорастание семян и биометрические показатели проростков *Cucumis sativus* L. сорта Феникс плюс на фоне ацетата кадмия. Исследования проводились с семенами *Cucumis sativus* L. сорта Феникс плюс, которые предварительно замачивали в 0,05% растворе препарата Эпин экстра и проращивали в кюветах на фильтровальной бумаге на растворах с различной концентрацией ацетата кадмия ( $10^{-2}$  –  $10^{-4}$ М, 100мкМ и 250мкМ), контроль – отстоянная водопроводная вода. Экспозиция предпосевной обработки семян составляла 4 часа. Проростки выращивали в водной культуре на  $\frac{1}{2}$  среде Кнопа. Показатели прорастания семян определяли по ГОСТу 12038-84. Определение морфометрических показателей проводили в динамике по общепринятым в физиологии растений методикам.

Важнейшими показателями характеризующими прорастание семян являются энергия прорастания и всхожесть. Предпосевная обработка семян огурца препаратом Эпин экстра способствовала прерыванию покоя и активизации процессов прорастания. Максимальный эффект получили при обработке семян в 0,05 % растворе препарата Эпин экстра, в результате чего энергия прорастания увеличилась на 25%, а всхожесть на 20% и составила 85 и 95% соответственно по сравнению с контролем.

Рост одно из наиболее легко обнаруживаемых явлений жизнедеятельности растений, так как при этом увеличивается размеры растительных органов и тканей. Ростовые показатели 14-дневных растений, выращенных с повышенным содержанием кадмия были значительно ниже контроля (среда Кнопа). Высота растений в контроле равнялась 12,1см, а при концентрации  $\text{Cd}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 10^{-3}$ М – 8,2см, что составило 33 % от контроля. Обработка семян в 0,05 % растворе препарата Эпин экстра улучшила ростовые показатели побегов в среднем на 14 - 17 %. Ярко выраженное ингибирующее действие ацетат кадмия оказал на корневую систему, подавляя рост в среднем на 30—40%, тогда как под действием препарата ростовые показатели корневой системы увеличились на 15-17 %.

Процессы роста тесно коррелируют с ходом накопления растениями массы сырого и сухого вещества. С угнетением роста растений происходит снижение накопления массы сырого вещества как надземной частью, так и корневой системой. В варианте опыта с концентрацией кадмия опыта  $10^{-3}$  М масса сырого вещества составляет 67% для стебля и 48% для корня по сравнению с контролем, тогда как предпосевная обработка семян препаратом повысила данный показатель на 9 % и 15 % соответственно.

Таким образом, в результате проведенных нами исследований установлено, что предпосевная обработка семян огурца сорта Феникс плюс препаратом Эпин экстра стимулирует ростовые процессы *Cucumis sativus* L. на фоне действия ацетата кадмия на ранних этапах онтогенеза. Данный эффект сохранялся на протяжении всего эксперимента.

**Фотосинтетические параметры *Artemisia santonica* в условиях Приэльтонья****Розенцвет О.А. \*, Кособрюхов А.А. \*\*, Захожий И.Г. \*\*\*, Табаленкова Г.Н. \*\*\*, Нестеров В.Н. \*, Богданова Е.С. \***

\*Институт Экологии Волжского бассейна РАН, ул. Комзина, 10, Тольятти, Россия

\*\* Институт фундаментальных проблем биологии РАН, ул. Институтская, 2, Пушкино, Россия

\*\*\*Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, ул. Коммунистическая, 28, Сыктывкар, Россия  
[olgarozen55@mail.ru](mailto:olgarozen55@mail.ru)

Галофиты Приэльтонья в течение большей части вегетационного периода, помимо засоления, испытывают действие высокой инсоляции и температуры. Полынь сантонинная (*Artemisia santonica* L.) - многолетний полукустарничек, типичный представитель галофитной флоры Приэльтонья, сформированной на засоленных почвах. Засоленность почвы в данном регионе обусловлена высокой минерализацией (15–30 г/л) грунтовых вод, залегающих на глубинах 0-3 м. Показано, что галофитам присуща повышенная средообразующая функция в экосистемах засоленных территорий. Сохранение фотосинтетической активности при физиологическом стрессе во многом определяет устойчивость растения к неблагоприятным факторам окружающей среды. Вместе с тем данные о механизмах адаптации фотосинтетического аппарата галофитов к неблагоприятным почвенно-климатическим условиям данного региона немногочисленны. Цель работы состояла в изучении фотосинтетической активности *Artemisia santonica* и адаптации ее фотосинтетического аппарата к экстремальным условиям Приэльтонья. Для изучения суточных изменений физиолого-биохимических показателей измерение функциональных параметров и отбор проб растительного материала осуществляли в утренние (9:00), дневные (14:00) и вечерние (20:00) часы. Уровень инсоляции в области ФАР в полуденные часы достигал  $2000 \text{ мкмоль м}^{-2} \text{ с}^{-1}$ , температура воздуха в исследуемый период варьировала в интервалах 30-35/25-30 °С (день/ночь). В результате проведенных исследований выявлена суточная динамика пула фотосинтетических пигментов в листьях растений. Массовая доля хлорофиллов в утренние часы составляла 7,4 мг/г сухой массы, в дневные часы отмечено снижение содержания зеленых пигментов. В вечернее время содержание хлорофиллов было минимальным и составляло 5,1 мг/г сухой массы. Отношение Хл *a/b* составляло 2,4 и оставалось стабильным в течение суток. Полученные данные свидетельствуют о высокой способности растений поддерживать синтез хлорофиллов в условиях интенсивного протекания процессов деградации фотосинтетических пигментов в дневное время. Для оценки состояния фотосинтетического аппарата (ФА) растений *A. santonica* в дневной динамике было использовано отношение вариабельной флуоресценции Хл *a* к ее максимальному значению (Fv/Fm), отражающее потенциальный квантовый выход фотосистемы 2 (ФС2). Установлено, что в ночное время величина Fv/Fm составляла 0.84 отн. ед., тогда как в полуденный период происходило падение данного показателя до 0.64 отн. ед. Значительное ингибирование активности ФС2 в дневное время происходило на фоне резкого возрастания тепловой диссипации и снижения реализации энергии возбуждения в фотохимических процессах, сопряженных с транспортом электронов в ФС2. Наибольшая активность ФА, оцененная по скорости CO<sub>2</sub> газообмена в листьях, отмечена у растений *A. santonica* в утренние часы –  $20 \text{ мкмоль CO}_2 \text{ м}^{-2} \text{ с}^{-1}$  при  $1200 \text{ мкмоль м}^{-2} \text{ с}^{-1}$  и  $t_{\text{возд}} = 29 \text{ }^\circ\text{C}$ . В середине дня, при повышении интенсивности потока ФАР и температуры ( $>1600 \text{ мкмоль м}^{-2} \text{ с}^{-1}$  и  $t_{\text{возд}} = 36 \text{ }^\circ\text{C}$ ), происходило снижение скорости фотосинтеза до  $12 \text{ мкмоль CO}_2 \text{ м}^{-2} \text{ с}^{-1}$ , а в вечерний период (в темноте) наблюдали только темновое дыхание. Насыщение фотосинтеза наступало при относительно низких уровнях интенсивности света:  $600\text{-}800 \text{ мкмоль м}^{-2} \text{ с}^{-1}$ . Несмотря на существенные изменения функциональной активности ФА в суточном цикле, растения характеризовались интенсивным синтезом углеводов, значительная часть которых в светлое время суток депонировалась в виде крахмала. Важная роль в поддержании нативной структуры и активности ФА отводится липидам мембран фотосинтезирующих органов. Жирнокислотный (ЖК) состав мембранных липидов тилакоидов характеризовался высокой долей полиненасыщенных жирных кислот (ИН = 2,0). Анализ суточной динамики пула ЖК выявил снижение ненасыщенности ЖК до значения 1,9. Наиболее лабильными оказались пальмитиновая и линоленовая ЖК. В середине дня происходило снижение галакто- и сульфолипидов и незначительное повышение в содержании фосфатидилглицерина. В вечернее время содержание липидов восстанавливалось до значений, отмеченных в утреннее время. Полученные данные свидетельствуют, что способность растений *A. santonica* к успешному существованию в засушливых условиях на засоленных почвах Приэльтонья тесно связана с целым рядом защитно-приспособительных реакций на уровне ФА и метаболизма мембранных липидов. В неблагоприятных условиях растения способны к сохранению структуры и функций ФА за счет уменьшения поглощения и увеличения диссипации энергии возбуждения светового потока, повышения эффективности использования воды в процессе фиксации CO<sub>2</sub>, динамичному синтезу фотосинтетических пигментов и липидов мембран тилакоидов.

**Связь между структурно-функциональной организацией листьев и продуктивностью прибрежно-водных растений в условиях лесной и степной зон Урала***Ронжина Д.А., Иванова Л.А., Иванов Л.А.*Ботанический сад УрО РАН, ул. 8 Марта, 202а, Екатеринбург, Россия  
[Dina.Ronzhina@botgard.uran.ru](mailto:Dina.Ronzhina@botgard.uran.ru)

Исследования фотосинтетического аппарата растений степной зоны традиционно сосредоточены на видах ксерофитов, входящих в состав зональных типов сообществ. Мало изученными в этом отношении являются прибрежно-водные растения степных ветландов, многие из которых являются плюризональными и произрастают как в степной, так и в лесной зонах. В аридных условиях на растения действует комплекс неблагоприятных факторов среды – высокие инсоляция и температура, низкая влажность воздуха. Задачей нашей работы было выявить направление изменения структурно-функциональных параметров фотосинтетического аппарата прибрежно-водных растений при адаптации к аридному климату и установить их влияние на продуктивность растений.

Исследования проведены на Среднем (г. Екатеринбург, индекс аридности ( $IA$ ) – 41) и Южном (Оренбургский заповедник, участок «Ащисайская степь»,  $IA$  – 20) Урале. Индекс аридности рассчитывали по De Martonne:  $IA=P/(T+10)$ , где  $P$  – среднегодовое количество осадков,  $T$  – среднегодовая температура (Encyclopedia..., 1987). Климатические данные взяты из базы данных <http://climate.geog.udel.edu>. Минимальное значение индекса соответствует максимальной аридности климата. На Южном Урале среднегодовая температура на 22% выше, а среднегодовое количество осадков в 2 раза меньше, чем на Среднем Урале. Исследования проведены на 5 плюризональных видах однодольных прибрежно-водных растений (*Alisma plantago-aquatica* L., *Carex acuta* L., *Eleocharis palustris* (L.) Roem. et Schult., *Phalaris arundinacea* L., *Typha angustifolia* L.). Определены площадь, толщина, объемная плотность (ОПЛ) и удельная поверхностная плотность листа (УППЛ) с помощью цифрового микрометра (Mitutoyo, Япония) и системы анализа изображений Simagis Mesoplant (Siams, Россия). Изучены скорость газообмена на газоанализаторе Li-6400 (LI-COR, США), содержание фотосинтетических пигментов с помощью спектрофотометра Odyssey DR/2500 (Nach, США), а также надземная биомасса растений. Массу растений определяли у 10 индивидуумов, а параметры листьев измеряли у 5 особей для каждого вида в каждом районе исследования.

Показано, что в более аридных условиях Южного Урала у трех видов гелофитов – *T. angustifolia*, *A. plantago-aquatica* и *C. acuta* – надземная биомасса уменьшалась в 3.9, 3.8 и 2.9 раза соответственно. Это сопровождалось сокращением площади листьев у этих видов ( $r=0.83$ ,  $p<0.01$ ). Биомасса растений и площадь листьев двух других видов – *E. palustris* и *P. arundinacea* – не изменялись при увеличении аридности климата. Толщина фотосинтезирующих органов у *E. palustris* и *T. angustifolia* на Южном Урале уменьшалась на 42 и 35 % соответственно, а у остальных трех видов – была одинакова. УППЛ у трех видов гелофитов – *P. arundinacea*, *A. plantago-aquatica* и *C. acuta* – в аридном климате увеличивалась в 1.5, 1.4 и 1.2 раза соответственно, у *T. angustifolia* – снижалась на 24 %, у *E. palustris* – была постоянной независимо от условий произрастания. Общей чертой для всех изученных видов было увеличение ОПЛ на Южном Урале, при этом максимальное повышение в 2 раза обнаружено у *E. palustris*, а минимальное – на 20 % – у *T. angustifolia*. В целом, увеличение ОПЛ и УППЛ соответствует направлениям изменения листовых параметров у видов растений зональных типов растительных сообществ при усилении аридности климата (Воронин и др., 2003, Иванов и др., 2009, Юдина и др., 2017).

Содержание хлорофиллов в единице площади листа у трех видов – *E. palustris*, *P. arundinacea* и *A. plantago-aquatica* – на Южном Урале повышалось в 1.6, 1.3 и 1.2 раза соответственно, а у *T. angustifolia* – снижалось на 21 %. Значения этого показателя у *C. acuta* в разных условиях произрастания были сходными. У всех видов было выявлено уменьшение фотосинтетической активности хлорофилла ( $A_{chl}$ , количество ассимилированной углекислоты на единицу массы хлорофилла) и эффективности использования воды ( $WUE$ , количество ассимилированной углекислоты на единицу транспирированной воды) на Южном Урале в среднем на 40 %. Снижение  $A_{chl}$  и  $WUE$  не было связано с изменением содержания хлорофилла или скорости транспирации, а было обусловлено уменьшением в аридных условиях у всех видов скорости фиксации  $CO_2$  в среднем на 37% ( $r=0.91$ ,  $p<0.05$  и  $r=0.93$ ,  $p<0.05$  соответственно).

Анализ межвидовых корреляций продуктивности растений и параметров листьев показал, что как на Среднем, так и на Южном Урале биомасса растений положительно коррелировала с площадью листа ( $r=0.83$ ,  $p<0.01$ ), УППЛ ( $r=0.84$ ,  $p<0.01$ ) и скоростью фотосинтеза единицы площади листа ( $r=0.90$ ,  $p<0.001$ ). Таким образом, характер связи между структурно-функциональными параметрами листьев и продуктивностью растений был универсальным и не зависел от аридности климата.

Авторы выражают благодарность сотрудникам заповедника «Оренбургский» за помощь в проведении исследований. Работа выполнена при поддержке РФФИ № 15-04-04186 и 15-04-06574.

## К вопросу об использовании янтарной кислоты в растениеводстве

*Роньжина Е.С.*

ФГБОУ ВО «Калининградский государственный технический университет». Советский проспект, 1, Калининград,  
Россия  
[e.ronzhina39@mail.ru](mailto:e.ronzhina39@mail.ru)

Свойства янтарной кислоты как биологически активного соединения, неспецифического биорегулятора, обладающего полифункциональным действием и оказывающего существенные позитивные эффекты на целый комплекс физиолого-биохимических процессов, протекающих в растительных и животных организмах, в последнее время весьма активно обсуждаются в научной литературе. При этом специалисты утверждают, что природная янтарная кислота, имеющая органическое (растительное) происхождение и являющаяся продуктом глубокой переработки янтаря, где она содержится в достаточно высоких концентрациях (до 8%) значительно более эффективна, чем синтетическая. Это связывают с различной пространственной конфигурацией молекул янтарной кислоты, отличающейся по происхождению. Поэтому целью настоящей работы явилось изучение действия природной янтарной кислоты на начальные этапы онтогенеза растений пшеницы (*Triticum aestivum* L.) для оценки возможности и целесообразности использования этого биологически активного вещества в технологии растениеводства. В опытах использовали янтарную кислоту, выделенную из природного балтийского янтаря (сукцинита), добытого АО «Калининградский янтарный комбинат» в Приморском (бывшем Пальмникенском) янтарном месторождении в пос. Янтарный Калининградской области, любезно предоставленную нам заведующим кафедрой химии Калининградского государственного технического университета к.т.н., доцентом, Б.Ю. Воротниковым. Семена пшеницы сорта Эстер предобрабатывали раствором янтарной кислоты. После этого анализировали всхожесть и энергию прорастания семян по ГОСТ 12038-84, в динамике проводили морфометрический анализ проростков, определяли соотношение сырой, сухой массы и воды стандартными методами. Биологическая повторность каждого варианта опыта была 100-кратной, воспроизведение опыта - четырех- пяти-кратным. Концентрацию и время предобработки биорегулятором варьировали в широких пределах. 5-часовая предобработка 0,020%-ной янтарной кислотой была выявлена в качестве оптимальной для повышения посевных качеств семян. В этом случае их энергия прорастания и всхожесть повышались на 10-20% соответственно. Влияния препарата на рост, развитие и формирование биомассы проростков пшеницы не обнаружено. Сделан вывод о том, что с помощью янтарной кислоты можно повысить посевные качества семян, сниженные в результате длительного хранения.

## Физиологические основы применения гидроксикоричных кислот в овощеводстве защищенного грунта

Роньжина Е.С., Беленко Д.П., Мудрова Л.Д.

ФГБОУ ВО «Калининградский государственный технический университет». Советский проспект, 1, Калининград, Россия  
[e.ronzhina39@mail.ru](mailto:e.ronzhina39@mail.ru)

На современном рынке пестицидов представлено большое количество препаратов, разработанных на основе биологически активных веществ. Значительная их часть в качестве действующего вещества (д.в.) содержит фенольные соединения, в частности, гидроксикоричные кислоты и их производные. В литературе имеются немногочисленные сообщения о способности данной группы веществ оказывать позитивное действие на урожайность и стрессоустойчивость сельскохозяйственных культур. Однако полученные авторами данные разрознены, нередко противоречивы и не дают возможность разработать научно-обоснованную теорию применения этих фиторегуляторов в растениеводстве, в том числе, защищенного грунта. Сложность решения этой задачи связана с высокой специфичностью и концентрационной зависимостью действия биологически активных веществ, что требует проведения исследований отдельно для каждой культуры на разных этапах онтогенеза. Поэтому целью настоящей работы явилось изучение действия гидроксикоричных кислот на комплекс физиологических параметров, характеризующих рост, развитие и функциональное состояние двух важнейших овощных культур – томатов (*Lycopersicon esculentum* Mill) и огурцов (*Cucumis sativus* L.). В качестве источника гидроксикоричных кислот использовали препарат Циркон (д.в. - смесь цикориевой, хлорогеновой и кофейной кислот; производитель - ННПП «НЭСТ М», Россия). Семена опытных растений обрабатывали водным раствором препарата, использованном в широком диапазоне концентраций. Время обработки семян огурца составляло 3, томатов - 2 ч. Часть растений обрабатывали Цирконом дополнительно на стадии 10-дневных проростков. Определяли всхожесть и энергию прорастания семян по ГОСТ 12038-84, стандартными методами анализировали морфометрические показатели, биомассу, параметры водного обмена проростков в онтогенезе, а также их устойчивость к действию ряда абиотических факторов. Воспроизведение опытов – 4-кратное, биологическая повторность в каждом варианте - 100-кратная при оценке посевных качеств семян и 10 – кратная при анализе прочих параметров. Достоверность различий между вариантами оценивали по *t*-критерию Стьюдента при  $\alpha = 0,05$ . В результате работы выявлены многочисленные позитивные эффекты и концентрационная зависимость действия препарата на большинство изученных показателей: с увеличением концентрации они повышались на 10-40, в ряде случаев – на 100% при максимальной из изученных концентраций 0,21 мг д.в./л. В целом, полученные результаты дают основание считать перспективным применение препаратов гидроксикоричных кислот в растениеводстве для улучшения посевных качеств семян, стимуляции роста и развития растений, улучшения их функционального состояния. При этом следует учитывать специфичность и концентрационную зависимость действия этих биологически активных веществ. Полученные результаты создают основу для разработки системы управления урожаем путем целенаправленной обработки сельскохозяйственных культур препаратами гидроксикоричных кислот.

## Оптимизация синтеза поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg) в трансгенных растениях

Рукавцова Е.Б., Пучко Е.Н., Бурьянов Я.И.

Филиал ФГБУН Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН.  
Проспект Науки, 6, Пушкино, Россия  
[ruk@bibch.ru](mailto:ruk@bibch.ru)

Ранее нами был получен ряд трансгенных растений, синтезирующих поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg) под контролем различных промоторов, в том числе и растения, не содержащие селективных маркеров устойчивости к антибиотикам и гербицидам с целью повышения биологической безопасности растений-продуцентов. Нами разработан новый метод получения безмаркерных растений основан на прямом скрининге трансформантов по детекции продукта экспрессии целевого гена. В результате получены линии безмаркерных растений табака, томата и картофеля, синтезирующие антиген на уровне до 0,05% от общего растворимого белка клетки. На лабораторных мышах исследована иммуногенность поверхностного антигена вируса гепатита В, синтезируемого клубнями безмаркерного картофеля. Такие растения могут быть использованы в качестве безопасной субстанции для производства съедобной вакцины против гепатита В.

Для получения наибольшего количества вакцины против гепатита В необходимо повысить уровень синтеза антигена в клетках растений. Нами проанализированы два подхода для увеличения экспрессии гена *HBsAg* в трансгенных растениях. Одним из подходов явилась модификация последовательности гена с учетом частоты встречаемости кодонов в растениях. Известно, что различия в преимуществе использования кодонов среди разных организмов приводят к многочисленным проблемам, касающимся экспрессии гетерологичных генов. Некоторые гены, в частности бактериальные, неэффективно экспрессируются в растениях, поскольку их ДНК содержит множество последовательностей, которые воспринимаются растительными клетками как места сплайсинга, сигналы полиаденилирования, терминции транскрипции и сигналы деградации мРНК. Кроме того, у растений другая частота использования кодонов по сравнению с бактериями и другими организмами. Значительно повысить экспрессию чужеродных белков в растениях обычно удается с помощью значительной модификации исходных последовательностей генов.

Модификация гена *HBsAg* проведена с применением программы *Grafical Codon Usage Analyser* ([www.gcu.schoedl.de](http://www.gcu.schoedl.de)). При расчетах были использованы данные о частоте встречаемости кодонов в ДНК растений *Nicotiana tabacum* L. Анализ ДНК мотивов модифицированной последовательности гена *HBsAg*, выполненный с помощью программы *Motif* (<http://motif.genome.jp>) показал отсутствие нежелательных последовательностей, таких как сигналы сплайсинга, сайты полиаденилирования и другие. Модифицированный ген *HBsAg* был встроен в вектор *pSS* под контроль сильного вирусного промотора с двойным энхансером 35S РНК вируса мозаики цветной капусты (*CaMV 35S*). Полученную генетическую конструкцию перенесли в штамм *A. tumefaciens* GV3101 (*pMP90RK*) методом прямой трансформации. Полученные штаммы агробактерий использовали для заражения листовых эксплантов табака и гипокотилей томата.

Регенеранты трансгенных растений были подвергнуты комплексному молекулярно-биологическому и биохимическому анализу. Исследования показали, что при использовании модифицированной последовательности гена *HBsAg* уровень экспрессии антигена остался таким же, как и при использовании исходной последовательности (не более 0,01-0,05% от общего растворимого белка). Вероятно, для достижения более высокого уровня синтеза HBs-антигена в растениях требуется использование более сильных регуляторных элементов, например, промотора с несколькими энхансерами.

Другим подходом для усиления экспрессии антигена в трансгенных растениях явилось получение генетической конструкции с геном *HBsAg* на основе бинарного растительного вектора *pPCV91*. Вектор для трансформации растений *pPCV91* был создан на основе плазмиды *pPCV720*. В этом векторе имеется промотор *CaMV 35S* с четырьмя энхансерами и нетранслируемая лидерная последовательность  $\Delta\Omega$  тРНК вируса табачной мозаики. Ген *HBsAg* встроили в этот вектор по сайту рестрикции *VamHI* и получили плазмиду *pPCV-Ag*, которую затем перенесли в супервирулентный штамм *A. tumefaciens* CBE21 (*pTiBo542*).

Трансгенные растения табака, содержащие ген *HBsAg* под контролем промотора *CaMV 35S* с четырьмя энхансерами, проанализированы на наличие поверхностного антигена вируса гепатита В. Экспрессия гена в таких растениях возросла не менее, чем в 2-10 раз по сравнению с экспрессией в ранее полученных растениях, в которых ген *HBsAg* находился под контролем двойного промотора 35S РНК вируса мозаики цветной капусты. Синтез HBsAg составил до 0,1% от общего растворимого белка, что является уровнем, достаточным для получения вакцины против гепатита В на основе таких растений и проведения доклинических испытаний.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований № 16-08-00511.



## Содержание АБК и ауксинов в растениях картофеля со сниженной экспрессией анионной пероксидазы

Румянцев С.Д., Веселова С.В., Сорокань А.В., Максимов И.В.

ФГБУН Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН 450054, пр. Октября 71, г. Уфа, Башкортостан, Россия тел. +7 (347) 2356088; факс +7 (347) 2356088  
[rumyantsev-serg@mail.ru](mailto:rumyantsev-serg@mail.ru)

Пероксидазы – многофункциональные ферменты, принимающие участие во многих процессах жизнедеятельности растений, включая защитные реакции против патогенов. Их роль в продуцировании и детоксикации активных форм кислорода позволяет предположить их участие в сигнальной регуляции различных процессов, в том числе, затрагивающих гормональный баланс растений, в том числе – ауксинов (ИУК-оксидазная активность) и АБК – одного из основных гормонов стресса. Основываясь на имеющихся данных о возможности изучения роли того или иного гена в морфолого-физиологических процессах в растении с помощью антисмысловых РНК мы получили генно-инженерную антисмысловую конструкцию гена *M21334* одной из изоферментов пероксидазы картофеля, транскрипцию которого ранее мы наблюдали в условиях воздействия на растения сигнальных молекул. Данные растения отличались низким содержанием перекиси водорода и малой чувствительностью к жасмоновой кислоте. В экспериментах использовались стерильные пробирочные растения картофеля устойчивого к фитофторозу сорта Невский (WT), и полученной на его основе линии asAPO с подавленной экспрессией гена анионной пероксидазы. Растения 30 сут культивировали на среде Муросиге-Скуга, затем заражали нанесением на каждый лист по 5 мкл суспензии зооспор патогена *Phytophthora infestans* ( $10^5$  спор/мл). Визуальные симптомы болезни оценивали по % площади поражения к площади листовой пластинки. Содержание фитогормонов (ИУК и АБК) определяли в растениях картофеля через 24, 48 и 72 ч после заражения. Для этого растительный материал растирали в 80% этаноле (соотношение 1 : 10); экстрагировали фитогормоны в течение 16-20 ч при 4°C; упаривали экстракт до водного остатка. АБК и ИУК экстрагировали из аликвоты водного остатка диэтиловым эфиром по модифицированной схеме. В полученном таким образом метилированном образце определяли АБК и ИУК с помощью иммуноферментного анализа с использованием специфических антител.

Было выявлено, что длина междоузлий на растениях линии asAPO сокращается по направлению к верхушечной меристеме. Так, длина 3 сверху междоузлия в растениях дикого типа составляет  $4.75 \pm 0.52$  мм, а в растениях линии asAPO –  $2.12 \pm 0.43$ . Длина четвертого от верхушечной меристемы междоузлия в растениях asAPO была почти вдвое короче, чем в растениях дикого типа. Однако, растения линии asAPO не имели существенных ростовых отличий от растений дикого типа, и содержание ауксинов и АБК в неинфицированных растениях двух линий было одинаково.

Растения линии asAPO характеризовались высокой степенью восприимчивости к фитофторозу по сравнению с растениями WT. При этом содержание АБК в растениях исходной линии увеличивалось двукратно только на 3 сутки после инфицирования, когда оомицет переходил к некротрофному типу питания, а в трансгенных содержание АБК превышало контрольные показатели вдвое уже через 6 и 24 часа, а на третьи сутки наблюдалось пятикратное увеличение этого показателя. Интересно, что в растениях устойчивого исходного сорта через 6 часов после инфицирования на 50% снижалось содержание ауксинов. На 2 и третьи сутки этот показатель приближался к контрольным значениям. В инфицированных растениях линии asAPO через 6 и 24 часа после инфицирования наблюдалось увеличение содержания ауксинов.

Таким образом, чувствительность растений к патогену увеличивалась при повышении содержания ИУК и АБК, что соответствует литературным данным. Так, выживаемость растений томата, обработанных экзогенной АБК, снижалась после инфицирования *P. capsici*, относительно необработанных растений. Нокаут гена ИУК-аминогидролазы приводил к снижению содержания свободной ИУК и устойчивости к *P. infestans* растений табака. Долговременное повышение уровня АБК на поздних стадиях инфицирования влияет негативно на защиту растений от различных патогенов, так АБК ингибирует салицилат-зависимую и модулирует жасмонат-зависимую устойчивость в растениях, способствует росту патогенов, снижает содержание фитоалексинов, подавляет экспрессию генов некоторых защитных белков. Так как растения трансгенной линии были малочувствительны к жасмонату, экстремальное накопление АБК может быть вызвано отсутствием обратной связи из-за сниженной экспрессии жасмонат-зависимых генов. Таким образом, вероятно, анионная изофермент пероксидазы, кодируемая геном *M21334*, принимает участие в регуляции устойчивости к *P. infestans*, опосредованной АБК и жасмоновой кислотой.

Работа выполнена в рамках Госзадания № 116020350027-7 (2016-2018) и при частичной поддержке гранта Правительства Республики Башкортостан для молодых ученых.

## Потенциал метаболизма (минеральный состав зерна) и его фенотипическая реализация (NDVI) в селекции яровой пшеницы

Савин Т.В., Абуғалиева А.И.\* , Кожжахметов К.\*

Казахский агротехнический университет, Казахстан, Астана

\*Казахский научно-исследовательский институт земледелия и растениеводства, Казахстан, Алматинская область,  
п.Алматыбак  
[kiz\\_abugalieva@mail.ru](mailto:kiz_abugalieva@mail.ru)

Важное значение имеет расширение генетических ресурсов за счет диких родичей с региональной характеристикой уровня метаболизма, биохимического состава зерна на фоне продуктивности для выявления новых генов и их изучение, которое возможно и эффективно при достаточном уровне фенотипирования материала в балансе технология/питательность.

В наших исследованиях использован материал, созданный на протяжении многих лет путем успешной гибридизации пшеницы *Tr.aestivum* и видов *Tr.timopheevi*, *Tr.militinae*, *Tr.kiharae*, *Tr.dicoccoides*, *Ae.cylindrica* и *Ae.triaristata* и получением переходных гибридных форм и продвинутых константных образцов.

Синтетические яровые формы пшеницы занимали промежуточное положение между дикими сородичами и современными сортами по содержанию азота. Выявлены переходные формы с уровнем потенциала метаболизма (минерального состава зерна) характерного для диких сородичей, близких с современными сортами в зависимости от условий выращивания.

Реализация потенциала в конкретных условиях фенотипирования синтетических форм яровой мягкой пшеницы с участием диких сородичей осуществлена методом *NDVI* - стандартизированный индекс различий растительности, который используется для измерения вегетативной зеленой части и уровня фотосинтеза. Он рассчитывается из измерений светоотражения в красном и ближнем инфракрасном (*NIR*) областях спектра. Здоровая зеленая масса будет поглощать большую часть красного света и отражать большую часть *NIR* света, хлорофилл поглощает в основном синий и красный свет и мезофилл отражает *NIR* свет:  $NDVI = (R_{NIR} - R_{Red}) / (R_{NIR} + R_{Red})$

Уровень накопления биологической массы для яровой мягкой пшеницы варьировал от 0,19 до 0,77 для сортов, диких сородичей, переходных (гибридных) и синтетических форм. Максимальные значения *NDVI* характерны для продуктивных по зерну генотипам. Динамика накопления биологической массы отражает ответную реакцию генотипа на стрессовые условия (повышение температуры воздуха, недостаточное увлажнение и т.д.).

Дикие сородичи не снижают *NDVI* в условиях стресса и характеризуются плавной (правильной) кривой *NDVI* в процессе вегетации. Сорта характеризуются скачкообразной кривой в условиях стресса. Переходные синтетические формы в зависимости от генотипа по-разному реагируют на условия среды. Критерием отбора на устойчивую физиологичность может быть плавная кривая на высоком уровне *NDVI*.

Максимальные значения *NDVI* для яровой пшеницы в условиях юга обуславливали урожайность на уровне 50 ц/га для лучших синтетических форм.

**JetGene – интегрированная база данных для анализа нуклеотидных последовательностей и кодонного состава организмов***Садовская Н.С., Мустафаев О. \*, Голденкова-Павлова И.В.*

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН. Ботаническая ул., 35, Москва, Россия.

\*Бакинский государственный университет. Академика Захида Халилова ул., 23, Баку, Азербайджан.

[nataliya.sadovskaya@gmail.com](mailto:nataliya.sadovskaya@gmail.com), [irengold58@gmail.com](mailto:irengold58@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. Они содержат самый полный набор информации для отдельно взятого гена или группы генов. Но все эти базы данных предназначены скорее для широкомасштабного *in silico* анализа и не дают возможность самостоятельно составлять выборки нуклеотидных последовательностей по различным параметрам удовлетворяющим запросам экспериментатора.

Нами создана база данных JetGene, охватывающая информацию о представителях шести основных царств: позвоночных (66 геномов), беспозвоночных (55 геномов), растениях (39 генома), грибах (564 геномов), одноклеточных (152 генома) и бактериях (29777 геномов). Она представляет собой комплексный ресурс и позволяет, в том числе, оценить зависимость предпочтений кодонный состава организмов и иных параметров. При этом следует отметить, что в настоящее время все программы, анализирующие кодонный состав, позволяют получить лишь общие сведения по всему геному в целом, или предназначены для исследования/оптимизации отдельно взятой последовательности. Дополнительно, JetGene дает возможность формировать и анализировать индивидуальные выборки нуклеотидных последовательностей, согласно критериям, выбранных пользователем. Например, отобрать гены в зависимости от длины кодирующих/некодирующих областей, их GC состава, а также мотивов, содержащихся в последовательностях. Поиск можно проводить как по полноразмерным последовательностям, так и по определенному участку последовательности. Либо выбрать гены, опираясь на то, какими остатками (стабилизирующими или дестабилизирующими) представлена вторая аминокислота, какие триплеты ее кодируют и ряду других ключевых характеристик последовательностей. Помимо этого, JetGene позволяет получить сведения о номере хромосомы, цепи (прямой и обратной) и участке хромосомы на которой локализован ген, если такая информация имеется для исследуемого организма. Данные, полученные на одном этапе работы можно использовать на последующих этапах, не извлекая их из JetGene. И, таким образом, получить всевозможные комбинации параметров, интересующих пользователя. Дополнительно, есть возможность загрузить уже имеющуюся выборку или создать выборку *de novo*, проанализировать полноразмерную последовательность целиком либо ее определенный участок. Удобный интерфейс JetGene позволяет отображать результаты анализа не только численно, но и в виде графиков. Это значительно облегчает предварительный анализ и дальнейшую работу экспериментатора. JetGene доступна по ссылке <http://jetgene.bioset.org/> .

**Влияние тяжелых металлов на метаболомный профиль проростков *Pinus sylvestris* L.****Сазанова К.В., Дроздова И.В., Алексеева-Попова Н.В., Шаварда А.Л., Беляева А.И., Калимова И.Б.**Ботанический Институт им. В.Л. Комарова РАН, 197326 ул. Проф. Попова 2, Санкт-Петербург, Россия  
[Ksazanova@binran.ru](mailto:Ksazanova@binran.ru)

В экспериментальных условиях изучали влияние тяжелых металлов Cu, Ni и Cd на метаболом растений *Pinus sylvestris* L. Проведен сравнительный анализ полученных данных методом ГХ-МС метаболомных профилей метанольных экстрактов вегетативных надземных частей молодых растений *Pinus sylvestris*, при повышенных дозах Cu, Ni и Cd в среде. Для опыта были использованы семена *Pinus sylvestris* в возрасте 1 месяц от появления всходов. Опыты проводили в песчаной культуре с внесением солей Cu, Ni и Cd в двух концентрациях 1 и 5 мМ. Образцы для метаболомного анализа и определения содержания тяжелых металлов отбирали три раза в процессе роста растений: на 3-й, 6-й и 9-й день после внесения металлов. Растения растирали в жидком азоте и экстрагировали метанолом. Полученный экстракт выпаривали при 40°C, сухой остаток растворяли в пиридине и получали ТМС - производные. Анализ проводили методом газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) на приборе Agilent с масс-селективным детектором 5975С (США), колонка HP-5MS, 30 м x 0.25 мм. Хроматографирование проводили при линейном программировании температуры от 70°C до 320°C со скоростью 4°C/мин. Сбор данных осуществляли с помощью программного обеспечения Agilent ChemStation. Статистическая обработка результатов была выполнена с помощью программы Multibase2015.

Всего в составе метаболомного профиля сосны обнаружено более 100 соединений, среди которых были идентифицированы карбоновые кислоты алифатического ряда, в том числе кислоты цикла Кребса, аминокислоты, сахарокислоты, жирные кислоты; сахароспирты, моно- и дисахара, циклические кислоты (шикимовая кислота, хинная кислота, кумаровая кислота, феруловая кислота), флавоноиды (катехины, изорамнетин), терпены (в том числе абиетиновая кислота и фитол), стеролы.

Для определения структуры полученных данных, а также выявления сходства и кластеризации метаболомов растений разных вариантов был использован метод главных компонент (МГК). Согласно результатам МГК-анализа, различия в структуре метаболитной сети после внесения тяжелых металлов, выражающиеся в кластеризации метаболомов опытных образцов, выращенных в присутствии того или иного металла, обнаруживались на 6-е сутки после его воздействия и наиболее четко проявились на 9-е сутки. На 6-е сутки роста при обеих концентрациях металлов шикимовая и хинная кислоты, а также глицериновая кислота вносили наибольший вклад в кластеризацию метаболомов *Pinus sylvestris*. При более длительном воздействии металлов и при концентрации металлов 5 мМ большую значимость приобретали жирные кислоты и сукцинат. Под действием металлов в концентрации 5 мМ на 9-е сутки изменения метаболома были связаны с изменениями уровня некоторых аминокислот (оксипролина и серина) и многоатомных спиртов (мио-инозитола и ононитола), фитола и катехина. Сравнительный анализ специфичности влияния металлов при разных дозах показал, что, оба фактора (природа металла и его концентрация) вносили равнозначный вклад в кластеризацию метаболомов растений.

Результаты определения уровня накопления тяжелых металлов позволили установить, что для Cu и Cd наиболее резкое увеличение их концентрации в вегетативной надземной части растения наблюдалось на 6-е сутки после внесения металлов. При внесении в среду 5 мМ количество Cu возрастало более чем в 5 раз, а Cd – в 20 раз по сравнению с 3-мя сутками и достигало для Cu 1010 мг/кг и для Cd – 1830 мг/кг сухой биомассы. На 9-е сутки концентрация этих металлов возрастала еще в 1.5–2.5 раза. Можно отметить, что содержание Cu и Cd уже на 6-е сутки достигало значительных величин, что оказывало токсическое действие. Ni при дозе 5 мМ достигал таких концентраций только на 9-е сутки. При концентрациях металлов 1 мМ их поступление в ткани растения происходило более равномерно и в значительно меньших количествах. При этом метаболомный ответ также как и при высокой концентрации выявился на 6-е сутки.

Следует отметить некоторую специфичность метаболомного ответа у растений в условиях токсического влияния отдельных тяжелых металлов. Так, внесение в среду Ni, в отличие от Cu и Cd, не вызывало достоверного возрастания уровня шикимовой и хинной кислот. Известно, что шикимовая и хинная кислоты являются промежуточными продуктами шикиматного пути, участвующего в биосинтезе фенольных соединений. По литературным данным, повышенное количество фенольных соединений в тканях растений наблюдали при воздействии различных стрессовых факторов. Это можно рассматривать как общую реакцию адаптации растений на стрессовые условия, стратегию запасаания углеродных скелетов, в периоды, когда рост растений ограничен.

Полученные результаты позволяют выявить скорость формирования ответной реакции метаболитной сети на воздействие тяжелых металлов. Выявленные различия метаболитной матрицы могут быть косвенным свидетельством того, что при концентрации 1 мМ происходят адаптационные процессы, а при более высокой концентрации металлов – 5 мМ в растениях проявляются уже токсические реакции.

## Получение гомогенных препаратов изоферментов фумаратгидратазы из семян подсолнечника

Сазонова О.В., Сэтре Т.Й.Л., Нгуен Т.Н.Н., Епринцев А.Т.

Воронежский государственный университет. Университетская площадь, 1, Воронеж, Россия  
[oksana\\_ragik@mail.ru](mailto:oksana_ragik@mail.ru)

Фумаратгидратаза (ФГ, фумараза КФ 4.2.1.2.) катализирует седьмую реакцию цикла трикарбоновых кислот, в которой происходит обратимая гидратация фумарата с образованием L-малата. По мнению многих исследователей, фумараза считается маркерным ферментом митохондрий, то есть обнаруживается только в этом клеточном компартменте. Однако в ряде исследований показано, что ФГ обнаруживается и в цитозоле животных тканей, грибов и такая информация стала накапливаться и для растений. У дрожжей и крыс, обе цитозольная и митохондриальная фумаразы кодируются одним геном и являются продуктами посттрансляционных модификаций. Установлено, что геномы тополя и риса содержат только 1 ген, кодирующий фумаратгидратазу. В то же время у арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana*) имеются два отдельных гена, кодирующих митохондриальную и цитозольную ФГ. На нашей кафедре в 2014 году был идентифицирован ген цитоплазматической фумаразы кукурузы (*Zea mays*) *fum2*. Возможно, что цитозольная фумараза связана конкретно с теми растениями, которые накапливают значительные объемы фумарата нежели малата в процессе фотосинтеза и ассимиляции нитратов. В связи с этим интересным представляется исследование фумаратгидратазной системы в подсолнечнике, накапливающим большое количество фумарата.

Целью работы являлось получение гомогенных препаратов изоферментов фумаратгидратазы из семян подсолнечника. Объектом исследования были семена подсолнечника *Helianthus annuus L.*, выращенные гидропонным способом при 12-часовом светопериоде при температуре 25°C. Активность определяли спектрофотометрически (СФ-2000) при длине волны 240 нм по увеличению оптической плотности вследствие образования двойной связи в молекуле фумарата. Специфическое проявление фумаразы осуществляли тетразолиевым методом с использованием вспомогательного фермента малатдегидрогеназы. Для получения гомогенных препаратов была проделана 4-стадийная очистка, включающая гомогенизацию материала, фракционирование сульфатом аммония, гель-фильтрацию (обессоливание) на колонке с сефадексом G-25, ионообменную хроматографию на колонке с DEAE-Sephacel. Количество общего белка определяли по методу Лоури. Для идентификации очищенной ФГ на гомогенность использовали электрофорез в полиакриламидном геле. Электрофоретическое исследование проводили по методу Девиса. Идентификацию белка проводили нитратом серебра.

Исследования показали, что активность ФГ при прорастании семян подсолнечника в течение 10 дней неоднородна. В первые дни происходит увеличение работы фермента, достигая максимума на третий день прорастания (60, 05 Е/г.с.м.). С четвертого дня по шестой скорость функционирования ФГ снизилась в 3 раза. На 7 день происходит резкий скачок активности исследуемого фермента до 55,73 Е/г.с.м. Начиная с восьмого дня идет снижение активности. Электрофоретический анализ в полиакриламидном геле выявил, что на третий день прорастания в проростках подсолнечника имеются две формы фумаратгидратазы с электрофоретической подвижностью  $R_f$  0,265 и 0,280 соответственно. Можно предположить, что быстро движущаяся форма фумаразы связана с митохондриальной фракцией и обеспечивает функционирование цикла трикарбоновых кислот. Медленно движущийся изофермент ФГ, по-видимому, локализован в цитоплазме и участвует в метаболизме дикарбоновых органических кислот. С помощью 4-стадийной очистки удалось получить гомогенные препараты изоформ фумаратгидратазы с удельной активностью 5,97 и 5,43 Е/мг белка, соответственно, при этом степень очистки составила почти 60 раз для одной фракции и 54,3 для другой. При этом ионообменная хроматография на DEAE-Sephacel оказалась решающей стадией. Электрофоретические анализы очищенных препаратов ФГ показали наличие в полиакриламидном геле после универсального окрашивания нитратом серебра двух белковых полос с  $R_f = 0,265$  для цитозольной и  $R_f = 0,280$  для митохондриальной изоформ. Подтверждением того, что это действительно фумараза, служат электрофореграммы ферментов на специфическую ферментативную активность. Таким образом, в ходе наших исследований были выявлены две формы фумаратгидратазы – цитоплазматическая и митохондриальная - с электрофоретической подвижностью 0, 265 и 0,280 соответственно. В результате четырехстадийной очистки были получены гомогенные препараты этих изоферментов, что открывает перспективы для их изучения.

## Водный и углеродный статус сосны и березы в условиях достаточной влагообеспеченности песчаных почв Карелии

Сазонова Т.А., Болондинский В.К., Придача В.Б.

ФГБУН Институт леса Карельского научного центра РАН, Пушкинская ул., 11, Петрозаводск, Россия  
[sazonova@krc.karelia.ru](mailto:sazonova@krc.karelia.ru)

В условиях Северо-Запада России наиболее широко представлены сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.) и береза повислая (*Betula pendula* Roth). Вопрос об их ответных реакциях на колебания условий природной среды является актуальным в свете прогнозируемых изменений климата. Отклик растений проявляется, прежде всего, в изменении интенсивности  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  обменов. В нашей работе проанализированы данные многолетних исследований показателей этих процессов у сосны и березы, которые были получены в наиболее продуктивном, для условий среднетаежной зоны Северо-Запада России, типе леса – сосняке черничном. В течение всего периода исследований нами были выявлены высокие значения водных потенциалов почвы, что свидетельствовало о его хорошей почвенной влагообеспеченности. Минимальные значения, наблюдаемые в наиболее сухие периоды лета (конец июля – начало августа), не опускались ниже  $-0.05$  МПа. Средние за вегетацию предрассветные и дневные значения водных потенциалов корней были близкими в разные годы исследования и составили соответственно для сосны  $-0.22 \pm 0.02$  и  $-0.32 \pm 0.03$  МПа, для березы  $-0.21 \pm 0.03$  и  $-0.27 \pm 0.04$  МПа. Анализ многолетних данных суточной динамики водных потенциалов охвоенных (облиственных) побегов ( $\Psi_{\text{ноб.}}$ ) сосны и березы выявил постоянство диапазонов их предрассветных ( $\Psi_{\text{ноб. max}}$ ) и дневных ( $\Psi_{\text{ноб. min}}$ ) значений, которые составили для сосны  $-0.3 \dots -0.7$  и  $-0.65 \dots -1.5$  МПа, для березы  $-0.1 \dots -0.45$  и  $-0.5 \dots -1.6$  МПа соответственно. Это позволило рассчитать средние за вегетацию величины  $\Psi_{\text{ноб. max}}$  и  $\Psi_{\text{ноб. min}}$ , равные для сосны и березы соответственно  $-0.44 \pm 0.01$  и  $-1.07 \pm 0.02$  МПа,  $-0.24 \pm 0.01$  и  $-1.02 \pm 0.03$  МПа.

Изменения переменных водного обмена, происходящие в течение суток и вегетационного периода были связаны, прежде всего, с изменением погодных условий, и не зависели от колебаний запасов влаги в почве. Сопряженное исследование предрассветных величин  $\Psi_{\text{ноб. max}}$  и запасов влаги в 0–50 мм слое почвы в зоне наибольшего распространения корней деревьев не выявило зависимости между этими показателями. Полученное «несоответствие» между влагообеспеченностью почвы и  $\Psi_{\text{ноб. max}}$  в условиях достаточного почвенного увлажнения обусловлено, вероятно, недостаточно продолжительным темновым периодом северного лета для восстановления водного потенциала растений и установления равновесия показателя в системе «почва – растение». Наряду с этим, несмотря на высокий уровень запасов влаги в почве, полученный результат указывает на наличие водного дефицита в самих растениях.

Наличие постоянного водного дефицита в растениях оказывало влияние на фотосинтез ( $P$ ) сосны и березы. Синхронная регистрация суточной динамики  $P$  и  $\Psi_{\text{ноб.}}$  сосны и березы показала, что от уровня водного дефицита, сформировавшегося к предрассветному часу, в определенной мере зависело время наступления максимума фотосинтеза ( $P_{\text{max}}$ ) и его величина. В условиях высокого водного дефицита, на что указывали величины  $\Psi_{\text{max}}$ , равные  $-0.6 \dots -0.7$  МПа у сосны и  $-0.35 \dots -0.45$  МПа у березы, время наступления максимального фотосинтеза сдвигалось на более ранние утренние часы. При этом депрессия фотосинтеза продолжалась более длительное время, что приводило к снижению его среднедневной продуктивности. Нами также отмечено, что реализация максимального за сутки фотосинтеза ( $P_{\text{max}}$ ) происходила в определенном диапазоне  $\Psi$ , который не зависел от года наблюдений. При этом для сосны он был достаточно широким ( $-0.7 \dots -1.1$  МПа), и в среднем составил  $-0.9 \pm 0.1$  МПа. Близость выявленных величин  $\Psi$  среднему за вегетацию значению  $\Psi_{\text{min. ср.}}$  ( $-1.07 \pm 0.02$  МПа) свидетельствует в целом о нормальной влагообеспеченности растений сосны, что обусловлено благоприятными для жизнедеятельности условиями в сосняке черничном свежем и обеспечивает им устойчивый уровень функционирования. Однако в кратковременные периоды «атмосферных засух» при нарастании дефицита воды в растениях ( $\Psi_{\text{min}}$ ) до  $-1.3 \dots -1.5$  МПа отмечали снижение интенсивности фотосинтеза в дневное время в 1.5 раза по сравнению с  $P_{\text{max}}$ . Нами также было показано, что при значениях  $\Psi = -1.15 \pm 0.11$  МПа вступает в действие устьичное ограничение транспирации сосны. Причиной этого, вероятно, является снижение гидравлической проводимости водопроводящих путей вследствие высокой уязвимости ксилемы сосны к эмболии. При этом уменьшение проводимости ксилемы и связанное с ним снижение проводимости устьиц приводит к уменьшению фотосинтеза. У растений березы максимальный фотосинтез ( $P_{\text{max}}$ ) отмечали при  $\Psi$ , равном  $-0.7 \pm 0.1$  МПа, что выше среднего за вегетацию  $\Psi_{\text{ноб. min}}$ . Это свидетельствует о большей требовательности березы к ее влагообеспеченности.

Таким образом, количественные оценки параметров исследуемых процессов можно рассматривать как норму для данных условий произрастания и показатель устойчивости деревьев сосны к воздействию внешних переменных в условиях региона. Наряду с этим выявленные отличия в величинах показателей водного обмена и фотосинтеза у сосны и березы в большей степени обусловлены различиями эколого-биологических характеристик и поведенческих стратегий этих видов.

Работа выполнена в рамках государственного задания ИЛ КарНЦ РАН (проект № 0220-2014-0010) и при частичной финансовой поддержке РФФИ (грант 17-04-01087-а).

## Регуляция ранних стадий формирования корневой системы у проростков кукурузы

Салмин С.А.

ФГБОУВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева», Комсомольская ул., 95, Орёл,  
Россия  
[gio2-74@mail.ru](mailto:gio2-74@mail.ru)

Развитие побеговых систем растений, как известно, подчиняется строгим морфологическим законам. В корневых системах растений наличие подобных закономерностей менее очевидно. Выявить чёткие закономерности строения корневых систем взрослых растений обычно уже не удаётся. 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, обёрнутое влажной фильтровальной бумагой, смоченной водопроводной водой, накрывали вторым стеклом и выдерживали в тёмном термостате течение двух или трёх суток при 27°C. Для дальнейших экспериментов использовали проростки с длиной главного корня 20-30мм или 50-70мм. Проростки помещали в чашки Петри на фильтровальную бумагу, смоченную дистиллированной водой (контроль), или растворами ИУК,  $\alpha$ -НУК, 6-БАП, АБК в дистиллированной воде. На каждую чашку Петри использовали по 10 мл растворов и помещали по 5 проростков. Чашки выдерживались в тёмном термостате при 27° С. Измеряли линейкой длину корней в течение трёх суток. Длину участков главного корня, несущих боковые корни, измеряли через 48 и 72ч 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. Проведённые исследования показали, что существуют не выясненные в настоящее время эндогенные механизмы регуляции ветвления корней.

## Роль особенностей состава и структуры утолщенных клеточных стенок в реализации механической функции растений

Сауткина О.В., Микшина П.В., Горшкова Т.А.

ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, 420111, г. Казань, ул. Лобачевского, 2/31  
[semargla.zhar@gmail.com](mailto:semargla.zhar@gmail.com)

В высших растениях реализация механической функции возложена на специализированные ткани, образованные клетками со значительно утолщенными клеточными стенками двух ключевых типов (вторичные и третичные). Традиционно в составе механических тканей выделяют колленхиму, образованную клетками с первичными клеточными стенками с участками вторичного утолщения, функционирующую только в состоянии тургора и склеренхиму, волокна которой формируют вторичную клеточную стенку, обогащенную целлюлозой, ксиланом и лигнином и третичную – в составе которой преобладает целлюлоза с параллельной ориентацией микрофибрилл, а также присутствует матриксный полисахарид особого типа (рамногалактуронан I). У голосеменных механическую функцию выполняют трахеиды древесины сжатия, по своему происхождению не относящиеся к механическим тканям, но состоящие из клеток со вторичными (ксилановыми) клеточными стенками с повышенным содержанием лигнина и работающие по принципу «толкания».

Ключевым полисахаридом в реализации опорных функций клеток является целлюлоза. Утолщения клеточных стенок колленхимы образованы слоями с параллельно-ориентированными микрофибриллами, погруженными в матрикс из пектиновых веществ, чередующихся со слоями с поперечной ориентацией микрофибрилл и низким содержанием пектинов. Такое распределение пектиновых веществ способствует растяжению клеточных стенок в радиальном направлении. В составе нецеллюлозных полисахаридов клеточных стенок колленхимы помимо пектиновых веществ отмечены ксилоглюканы и ксиланы, осуществляющие взаимодействие микрофибрилл целлюлозы и придающие дополнительную прочность клеточным стенкам. Основными «агентами», обеспечивающими механическую прочность вторичных клеточных стенок как склеренхимных волокон, так и трахейд древесины сжатия голосеменных, служат ксиланы, глюкоманнаны, маннаны и лигнин, последний наиболее выражен в древесине сжатия. В третичной клеточной стенке склеренхимных волокон в реализации механической функции наряду с целлюлозой принимают участие и пектиновые полисахариды.

В работе на примере изолированной колленхимы сельдерея (*Apium graveolens* L.) и смесей тканей, обогащенных волокнами склеренхимы (*Populus tremula* × *tremuloides* Michx.) и трахеидами древесины сжатия (*Larix* sp.) будут обобщены и дополнены имеющиеся представления об организации утолщенных клеточных стенок с упором на состав и характер удерживания в клеточной стенке различных полисахаридов, для получения которых были разработаны собственные и оптимизированы имеющиеся алгоритмы фракционирования клеточных стенок и очистки полисахаридов. Особое внимание в докладе будет уделено  $\beta$ -(1→4)-галактанам, ранее выявленным иммуноцитохимически и в утолщениях клеточных стенок клеток колленхимы, и в третичных клеточных стенках волокон различных культур, и в обогащенном лигнином слое клеточной стенки древесины сжатия голосеменных. Галактаны будут охарактеризованы по ряду критериев, включающих, в частности, наличие связи с остовом рамногалактуронана I и степень полимеризации; по результатам скрининга особенностей этих полисахаридов будет выдвинуто предположение об их роли в различных тканях, выполняющих механическую функцию.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ № 15-04-02560 и гранта президента РФ для государственной поддержки молодых российских ученых МК-8393.2016.4.



## Влияние стрессовых факторов внешней среды на функционирование сукцинатдегидрогеназы в зеленых листьях кукурузы

Селиванова Н.В., Анохина Г.Б., Епринцев А.Т.

Воронежский государственный университет, Университетская пл., 1, Воронеж, Россия  
[kir2202@yandex.ru](mailto:kir2202@yandex.ru)

В последнее время очень большое внимание уделяется воздействию внешних факторов (таких, например, как окислительный, водный, солевой и температурный стресс) на живые организмы. Для понимания процессов, протекающих в растительной клетке в условиях стресса, необычайно важным является изучение отдельных ферментативных структур, а также способов регуляции их работы. Сукцинатдегидрогеназа (СДГ, КФ 1.3.99.1) занимает уникальное положение в системе метаболических процессов, протекающих в клетке, функционируя в цикле трикарбоновых кислот и электрон-транспортной цепи митохондрий. В связи с этим, целью нашей работы явилось изучение влияния таких стрессовых факторов, как температура и засоление на функционирование сукцинатдегидрогеназы в проростках кукурузы.

В нашей работе объектом исследования служили листья 10-12 дневной кукурузы (*Zea mays* L.) сорта Воронежская 76, которые выращивались гидропонно при десятичасовом световом дне и интенсивности света - 25 Ватт/ м<sup>2</sup>. Постановка эксперимента по действию солевого стресса осуществлялась путём помещения растений из опытной группы в 150 мМ водный раствор хлорида натрия (NaCl). Контролем служили образцы, экспонированные в воде. Опыт по влиянию температур на активность СДГ проводился следующим образом. Одну группу растений помещали в холодильную камеру при температуре окружающей среды +4°C. Другие проростки выдерживали при +37°C. Контрольная группа растений находилась в стандартных условиях (при температуре 23 °C). Активность СДГ определяли методом, основанным на применении искусственных акцепторов электронов с соответствующим редокс-потенциалом. В качестве метода получения кДНК использовали выделенную с помощью фенол-хлороформной экстракции суммарную РНК в реакции обратной транскрипции. Для выяснения изменения уровня экспрессии генов *sdh1-2*, *sdh2-3*, *sdh-3* и *sdh-4* СДГ проводили ПЦР-РВ на приборе Bio-Rad Chromo 4 (Bio-Rad, США). В качестве интеркалирующего красителя использовался SYBR Green I.

Результаты исследований по влиянию солевого стресса на растительный организм показали, что раствор хлорида натрия (150 мМ) вызывает увеличение общей активности сукцинатдегидрогеназы в проростках кукурузы относительно контрольной группы растений. Максимального значения данный показатель достиг через 3 часа после начала инкубации растений в солевом растворе, увеличившись почти в 6 раз относительно контроля), что может объясняться активацией исследуемого фермента, ассоциированной с необходимостью дополнительной энергизации клетки. Приток дополнительной энергии обеспечивает компенсацию отрицательного действия хлорида натрия. Исследования влияния экстремальных для растительного организма температур (выходящие за пределы оптимумов), показали, что у растений, инкубируемых при температуре окружающей среды +4°C значения активности сукцинатдегидрогеназы были выше значений контрольной группы растений почти в два раза уже по истечении часа инкубации. Максимальная активность наблюдалась спустя три часа после начала эксперимента, достигая величин в четыре раза превышающих контроль.

Растения, инкубирующиеся при температуре окружающей среды равной +37°C, также демонстрировали, в первые часы, увеличение удельной активности сукцинатдегидрогеназы почти в два раза (в сравнении с контрольной группой). Дальнейшие результаты эксперимента показали резкое падение значений удельной активности СДГ. Отметим, что по прошествии шести часов инкубации активность фермента опустилась ниже значений, характерных для контрольной группы растений.

Анализ относительного количества транскриптов генов, кодирующих сукцинатдегидрогеназу зеленых листьев кукурузы, показал значительное увеличение скорости работы исследуемых генов в первые часы инкубации, что, вероятно, связано с попыткой компенсировать действие соли на организм растения путем корреляции значений активности СДГ. По истечении 24 часов эксперимента наблюдалась стадия истощения, что, вероятно, обусловлено нарушением в работе транспортной системы ионов кальция. Проведенные нами исследования по влиянию температурного стресса на относительный уровень транскрипции сукцинатдегидрогеназных генов показал, что и высокие и низкие температуры оказывают стимулирующее действие на работу генов, что может быть связано с процессом адаптации растительного организма к действию экстремальных температур, которое заключается в увеличении доли фотосинтеза и, соответственно, в увеличении доли сахаров, что в свою очередь приводит к снижению роли ЦТК. Полученные данные по изменению уровня транскриптов сукцинатдегидрогеназных генов коррелируют с результатами исследования активности СДГ в условиях действия температурного стресса.

Таким образом, установлено, что продолжительность действия стрессового фактора играет важную роль в работе сукцинатдегидрогеназы. Длительная инкубация растений в условиях засоления, высоких и низких температур вызывает, несмотря на первоначальное увеличение активности фермента, в конечном итоге, значительное ингибирование работы СДГ.

## Биоактивный потенциал экстрактов некоторых дикоросов Якутии

Сивцева С.В., Охлопкова Ж.М.

Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова. Белинского ул., 58, Якутск, Россия  
[SV.Sivtseva@mail.ru](mailto:SV.Sivtseva@mail.ru)

В народной медицине Якутии отмечено применение 300 видов растений, разрешенных фармакологическим комитетом Министерства здравоохранения. Растительное сырье используют для получения эфирных и жирных масел, брикетов, фильтр-пакетов, экстрактов, настоек, эликсиров, бальзамов, лекарственных препаратов на основе индивидуальных биологически активных соединений. Действие фитопрепаратов обусловлено составом биологически активных веществ (БАВ) и вторичных метаболитов растений. Фитопрепараты сочетают в себе хороший терапевтический эффект и относительную биобезопасность. В современной фармакологии большинство средств представлено БАВ растительного происхождения или синтезированными химическим путем их аналогами. Однако, несмотря на успехи синтетической химии, из растений получают более трети лекарственных препаратов.

Научно-практический интерес представляют дикоросы Якутии как источники БАВ. Целью данной работы является изучение биоактивного потенциала экстрактов из надземной фитомассы некоторых дикоросов, произрастающих на территории Центральной, Северо-Восточной и Южной Якутии. Нами решались следующие задачи: 1) Сбор, фиксация, транспортировка фитомассы объектов исследования и пробоподготовка; 2) Получение сухих экстрактов с помощью метанольного экстрагирования; 3) Анализ уровня цитотоксичности сухих экстрактов; 4) Анализ уровня острой токсичности сухих экстрактов; 5) Скрининг антибактериальной активности сухих экстрактов; 6) Скрининг фунгистатической активности сухих экстрактов.

Материалы и методы. Объектами исследования представлены дикоросы Якутии как *Thymus karavaevii* Doronkin (семейство *Lamiaceae*), *Pinus pumila* (Pall) Regel (семейство *Pinus*) и *Artemisia yacutica* Drob. (семейство *Asteracea*). Сбор их надземной фитомассы выполнен в течение полевых сезонов 2012-2016 гг. на экологически чистых фитоценозах Амгинского, Олекминского и Оймяконского районов Якутии. Фитомасса было высушена, механически очищена, измельчена, просеяна через сито, взвешена и хранилась при 4°C до получения экстрактов. Сухие экстракты получали экстрагированием метанолом в течение 72 часов, экстракты фильтровали дважды, сушили на роторном испарителе, концентрировали под давлением и хранили при -20°C до скрининга. Скрининг антибактериальной и фунгистатической активности экстрактов проводили методом Кирби-Бауэра с модификациями. Определение цитотоксичности, уровня острой токсичности проводили по методическим указаниям Хабриева с модификациями. Все варианты (опытные и контрольные) выполнены в 3-х повторностях. Статистическую обработку результатов и их достоверность вычисляли на MS Excel Microsoft Office через критерий Стьюдента для уровня вероятности не менее 95%.

Результаты исследования. При скрининге сухих метанольных экстрактов на микроорганизмах *Salmonella enteric subspecies serovar Typhimurium* LT2, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, *Escherichia coli* BL21, *Paenibacillus* sx. 2643 ССК 211 и *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 нами выявлена антибактериальная активность в следующем порядке (убывания): *Artemisia yacutica* (стебель, Южная Якутия) > *Artemisia yacutica* (стебель, Центральная Якутия) > *Pinus pumila* (хвоя, Северо-Восточная Якутия) > *Artemisia yacutica* (листья, Центральная Якутия) > *Thymus karavaevii* (фитомасса, Северо-Восточная Якутия). При скрининге сухих метанольных экстрактов на микроорганизмах *Candida* 4075, *Torulaspora delbrueckii* 4063, *Debaryomyces hansenii* 4059 нами выявлена фунгистатическая активность в следующем порядке (убывания): *Pinus pumila* (хвоя, Северо-Восточная Якутия) > *Thymus karavaevii* (фитомасса, Северо-Восточная Якутия) > *Artemisia yacutica* (стебель, Центральная Якутия). Уровень цитотоксичности сухих метанольных экстрактов к микроорганизмам был дифференцированным, что, возможно, объясняется различным составом биологически активных веществ и вторичных метаболитов в исследуемых экстрактах. По отношению к грамположительным *Paenibacillus* sx. и *Staphylococcus aureus* наиболее значимую активность проявляет экстракт из стеблей полыни якутской, произрастающей в Южной Якутии, при концентрации 0,0935 мг/мл и 0,061 мг/мл. По отношению к грамотрицательным *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* высокая активность наблюдается при концентрации 0,072, 0,075, 0,0765, 0,0725 мг/мл, соответственно, также у экстракта из стеблей полыни якутской, произрастающей в Южной Якутии. При оральном и внутримышечном введении экстрактов лабораторным мышам линии balb/c не обнаружены побочные явления, что соответствует IV классу токсичности. Вычислено значение LD<sub>50</sub> экстрактов, которое не превышает 5000 мг/кг.

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о биоактивном потенциале экстрактов некоторых дикоросов Якутии в отношении *Salmonella enteric subspecies serovar Typhimurium* LT2, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, *Escherichia coli* BL21, *Paenibacillus* sx. 2643 ССК 211, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida* 4075, *Torulaspora delbrueckii* 4063 и *Debaryomyces hansenii* 4059. Полученные данные показывают перспективы использования экстрактов *Pinus pumila*, *Artemisia yacutica*, *Thymus karavaevii* Якутии в качестве источников БАВ антибактериального и фунгистатического действия.

## Клетки мезофилла листа ячменя в онтогенезе: изменение структуры и функциональной активности фотосинтетического аппарата

Синенко О.С., Малева М.Г., Киселева И.С.

Уральский Федеральный Университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина Ул. Мира 19, Екатеринбург, Россия  
[olga\\_sinenko@list.ru](mailto:olga_sinenko@list.ru)

Онтогенетические изменения структуры и функциональной активности фотосинтетического аппарата определяют в конечном итоге уровень ассимиляции  $\text{CO}_2$  растений и их продукционный процесс. Поэтому, изучение процессов формирования фотоавтотрофной клетки и хлоропластов является важным как с фундаментальной точки зрения, так и в прикладном аспекте. Первый лист ячменя – удобный объект для изучения онтогенеза клеток мезофилла в пределах одного листа, поскольку от его основания до верхушки имеется градиент разновозрастных клеток.

В качестве объекта исследования использовали растения ярового ячменя (*Hordeum vulgare* L.) сорта «Ача», выращенные в контролируемых условиях на гидропонике при интенсивности светового потока ФАР –  $350 \pm 50$  мкмоль/( $\text{m}^2\text{c}$ ), фотопериоде 16:8, температурой  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ : $22 \pm 1^\circ\text{C}$  и относительной влажности воздуха 55:70 % (день:ночь). Использовали 7-дневные проростки. Структурные и функциональные параметры клеток изучали в трех зонах листа: в базальной части – зона I – деления клеток и зона II – растяжения клеток; в верхней трети листа – III зона дифференцированных клеток. Мезоструктурные показатели определяли по методике Борзенкова, Храмова (2006). Подсчет клеток производили в камере Горяева, определение объема и площади клеток и хлоропластов производили с помощью программного обеспечения Simagis Mesoplant. Содержание хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов определяли спектрофотометрически на Jasco V-650 ("Jasco Inc.", США) в ацетоновом экстракте (80 %). Расчет содержания хлорофиллов и каротиноидов проводили по Lichtenthaler (1987). Измерения проводили в 5-6 биологических повторностях.

В результате анализа мезоструктуры листа было отмечено закономерное увеличение объемов клеток от первой зоны ( $1.26 \pm 0.04$  тыс. мкм<sup>3</sup>) к третьей ( $20.39 \pm 0.90$  тыс. мкм<sup>3</sup>) в 15.7 раз; а хлоропластов – от  $13.14 \pm 0.72$  мкм<sup>3</sup>, до  $48.84 \pm 1.95$ , то есть, в 3.7 раза. При этом число хлоропластов в клетке увеличилось в 3.2 раза (от  $16.84 \pm 0.22$  до  $51.91 \pm 1.79$ ), а в единице поверхности листа – в 1.7 раза. Наблюдали также рост проективной поверхности хлоропластов в 2.4 раза. Число клеток в см<sup>2</sup> листа уменьшилось в 1.8 раза. Эти измеряемые параметры позволили рассчитать индексы  $A/A_{\text{mes}}$  (ИМК) и  $A/A_{\text{chl}}$  (ИМХ), характеризующие соотношение между суммарной поверхностью клеток или хлоропластов к поверхности листа. Эти параметры коррелируют с проводимостью листа для  $\text{CO}_2$ . Показано, что величина этих индексов увеличивалась от зоны I к зоне III в 4.3 и 5.1 раза, соответственно. Это означает, что условия для диффузии углекислоты в клетки и хлоропласты по мере формирования тканей листа становятся лучше.

После прорастания листа и его выхода из колеоптиле, когда он становится способным улавливать кванты света, в пластидах начинают активно формироваться фотосистемы, развиваются фотосинтетические процессы, направленные на рост и формирование листа, что так же подтверждают данные по количеству пигментов. Суммарное содержание хлорофилла (*a*+*b*) от зоны меристемы к зоне дифференцированных клеток увеличивалось в расчете на сухую массу более чем в 17 раз, содержание каротиноидов – в 35. Соотношение хлорофиллов *a* к *b* выросло в 2.7 раза за счет значительного возрастания содержания хлорофилла *a*. Содержание пигментов изменялось не только в расчете на единицу массы. В хлоропластах содержание хл *a* увеличилось в 14, хл *b* – в 5, а каротиноидов в 21 раз. Полученные данные свидетельствуют об опережающем формировании компонентов фотосистемы I в онтогенезе листа. Изменение соотношения пигментов указывает на возрастание доли фотосистемы II в процессе дифференциации клетки.

Изменение структурных параметров мезофилла листа приводило к изменению функциональной активности клеток и хлоропластов. Так, ранее нами было показано онтогенетические изменения эффективности фотохимических процессов в хлоропластах клеток на разных стадиях их онтогенеза. Вместе с тем, было показано, что максимальный квантовый выход ФСII оставался практически неизменным в разные фазы онтогенеза клетки мезофилла, что свидетельствует о стабильной работе имеющихся в мембранах молекул хлорофилла.

Таким образом, в ходе формирования фотосинтетического аппарата в онтогенезе осуществляются как структурные (изменение размерных и количественных параметров хлоропластов, клеток), так и функциональные перестройки, которые обеспечивают необходимые оптические свойства мезофилла, его проводимость для  $\text{CO}_2$ , и, следовательно, эффективный фотосинтез.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 15-04-08380 А) и программы 211 Правительства Российской Федерации, соглашение № 02.А03.21.0006.

## Модифицирующий эффект низкоинтенсивного переменного магнитного поля на функционирование фотосинтетического аппарата растений гороха

*Синицына Ю.В., Середнева Я.В., Веселов А.П.*

ННГУ им. Н.И. Лобачевского, 603950, пр. Гагарина, 23, г. Нижний Новгород, Россия  
[jsin@inbox.ru](mailto:jsin@inbox.ru)

Многие исследования показывают, что низкоинтенсивные переменные магнитные поля могут вызывать структурно-функциональные изменения в биологических мембранах, а именно изменять соотношение мембранных липидов и подавлять в них окислительные процессы. Наиболее чувствительными к магнитным полям должны быть мембраны, в которых локализованы электрон-транспортные цепи. В связи с этим, исследовали состояние фотохимических процессов в мембранах хлоропластов растений гороха в условиях действия низкоинтенсивного переменного магнитного поля. Для выявления возможного преадаптирующего эффекта переменного магнитного поля листья растений подвергали воздействию гипертермии.

Объектом исследования служили двухнедельные растения гороха сорта "Альбумен", выращенные при температуре 23°C, световом режиме "день/ночь" 16/8 ч в климатической камере. Низкоинтенсивное магнитное поле создавали с помощью установки VL-2, характеристики поля - 15 Гц, 1,5 мТл, длительность обработки - 2 ч. Гипертермической обработке подвергали один из парных листочков гороха (не отделяя от растения): выдерживали в воде, нагретой до 50°C, в течение 3 минут, второй парный листочек при этом находился при 23°C. Контрольные листья не подвергали действию ни переменного магнитного поля, ни гипертермии. Фотохимическую активность листьев гороха определяли, оценивая индуцированную флуоресценцию хлорофилла с помощью РАМ-флуориметра-имиджера Imaging-RAM MINI.

Показано, что переменное магнитное поле не изменяло по сравнению с контролем в листьях после темновой адаптации начальный уровень флуоресценции  $F_0$ , квантовый выход фотосистемы II  $F_v/F_m$ , но статистически значимо увеличивало  $F_m$ . Гипертермия подавляла фотосинтетическую активность, снижая  $F_m$ ,  $F_v/F_m$  на 35-40%. Как преадаптирующий фактор, переменное магнитное поле предотвратило сильное снижение показателя  $F_m$  после прогрева листа, но не скорректировало величину  $F_v/F_m$ .

После выдерживания растений в переменном магнитном поле было зарегистрировано увеличение эффективного квантового выхода второй фотосистемы  $Y(II)$  и скорости электронного потока ETR в среднем на 15%, но уровень фотохимического тушения флуоресценции  $qP$  оставался равным контрольному. Гипертермия, как и ожидалось, вызвала резкое снижение данных показателей, а переменное магнитное поле не предупреждало развитие таких повреждений.

Наиболее интересные результаты были выявлены при анализе долей квантового выхода контролируемого  $Y(NPQ)$  и неконтролируемого  $Y(NO)$  рассеивания энергии при нефотохимическом тушении. Переменное магнитное поле на 50% уменьшало уровень  $Y(NPQ)$  и активировало  $Y(NO)$  в среднем на 20%. В отличие от этого фактора, гипертермия вызывала значительное повышение как контролируемого, так и неконтролируемого рассеивания энергии на 30-50%. В варианте последовательной обработки растений переменным магнитным полем и затем гипертермией наблюдали еще больший уровень диссипации энергии на 50-100%, т.е. магнитное поле провоцировало рост рассеивания при последующей стрессовой нагрузке.

Таким образом, низкоинтенсивное переменное магнитное поле в целом несильно изменяло работу фотосинтетического аппарата. На основании отсутствия изменений квантового выхода  $F_v/F_m$  и фотохимического тушения можно предположить, что магнитное поле не повлияет на показатели ассимиляции растений, т.е. на более высоких уровнях организации (ткани, растение) действие магнитного поля на фотосинтез не проявится. Увеличение ETR и изменение долей контролируемого и неконтролируемого рассеивания энергии позволяет предположить уменьшение вероятности утечки электронов или энергии в том числе на кислород, а значит снижение уровня свободнорадикального окисления в растительной клетке. Именно эти небольшие перестройки в работе фотосинтетического аппарата, вероятно, вызвали резкий рост рассеивания энергии при последовавшей за выдерживанием растений в магнитном поле стрессовой гипертермической нагрузке. В этом случае можно ожидать протекторный антиоксидантный эффект магнитного поля, снижающий степень окислительных повреждений при помещении растений в стрессовые условия.

**Использование методологии прогнозируемого получения трансгрессивных форм растений с комплексом хозяйственно-ценных признаков при селекции редиса в светокультуре**

*Синявина Н.Г., Кочетов А.А., Мирская Г.В., Макарова Г.А.*

ФГБУН Агрофизический научно-исследовательский институт, Санкт-Петербург  
[sinad@inbox.ru](mailto:sinad@inbox.ru)

Обеспечение населения Северных регионов России свежими овощами в осенне-зимний и зимне-весенний период является приоритетной народно-хозяйственной задачей. Важную роль в ее реализации играет растениеводство защищенного грунта, что определяет актуальность селекционных исследований, направленных на создание отечественных конкурентоспособных сортов и гибридов овощных культур, максимально реализующих свой продукционный потенциал в условиях защищенного грунта.

Одной из культур, широко выращиваемых в светокультуре, является редис, отличающийся высокой продуктивностью и скороспелостью. Селекционная работа с ним - одно из направлений исследований в лаборатории экологической генетики и селекции растений ФГБУН АФИ. Здесь в результате многолетних исследований по изучению взаимодействия генотип-среда в условиях регулируемой агроэкосистемы разработана методология прогнозируемого получения трансгрессивных форм различных культур с комплексом хозяйственно-ценных признаков. Эта методология применена при селекционной работе с редисом. В условиях короткого дня (12-часовой фотопериод) проведена оценка коллекции редиса (27 сортов) по ряду хозяйственно-ценных признаков: скороспелости, продуктивности, форме корнеплода, устойчивости к стрелкованию, компактности листовой розетки, степени опушенности листа. Особое внимание уделяли таким параметрам, как длина и диаметр корнеплода, детерминирующим его массу и влияющим на продуктивность культуры. Задача исследований заключалась в подборе родительских пар для гарантированного получения гетерозиса по массе корнеплода у гибридных растений редиса за счет сочетания у гибридов признаков длины корнеплода одного из родителей (цилиндрическая форма) и диаметра- у другого (округлая форма).

После изучения формирования хозяйственно-ценных признаков у разных сортов редиса в условиях короткого дня были подобраны родительские сорта, взаимодополняющие друг друга по компонентам продуктивности, характеризующиеся высокими темпами роста, способные давать товарные корнеплоды массой свыше 20 г. за три недели вегетации, устойчивые к стрелкованию. Полученные гибриды  $F_1$  в различных комбинациях скрещивания обладали высокой степенью проявления гетерозисного эффекта как по общей массе растения, так и по массе корнеплода (от 110 до 230% по отношению к лучшему из родителей). Максимальным проявлением гетерозиса по продуктивности характеризовались комбинации скрещивания Slavia x Виола, Pernot x Виола и Глобус x Виола. В их потомстве  $F_2$  путем индивидуального отбора выделены экземпляры – носители комплекса хозяйственно-ценных признаков, таких как скороспелость, высокая масса корнеплода (сочетание длины и диаметра корнеплода родителей), компактная листовая розетка, малоопушенный лист салатного типа, устойчивость к стрелкованию. В дальнейшем на их основе планируется создание стабильных, высокопродуктивных, наследственно закрепленных линий редиса с комплексом ценных свойств, предназначенных для выращивания в защищенном грунте.

## **Изменчивость признаков донорно-акцепторной системы растений, определяющие продуктивность сортов риса**

*Скаженник М.А., Воробьев Н.В., Ковалев В.С., Гаркуша С.В., Пишеницына Т.С., Балясный И.В.*

Всероссийский научно-исследовательский институт риса: п. Белозерный, 3, Краснодар, Россия  
[sma\\_49@mail.ru](mailto:sma_49@mail.ru)

Известно, что фотосинтетическая деятельность растений в посевах лимитируется рядом факторов: приходом ФАР, доступом  $\text{CO}_2$  для процесса фотосинтеза, недостатком азота и других элементов питания. В этих условиях сортовые различия по продуктивности фотосинтеза проявляются мало. Во многих работах показано, что в ходе селекции фотосинтетический аппарат у новых сортов злаков, по сравнению со стародавними образцами не претерпел каких либо существенных изменений. Успехи селекции в создании сортов с более высоким хозяйственным урожаем в основном связаны с использованием большей доли образующихся в процессе фотосинтеза ассимилятов на развитие генеративных органов у плодоносящих побегов, что обеспечило формирование высокопродуктивного колоса, метелки и привело к повышению урожайности новых сортов злаков. В связи с этим процессам образования и распределения ассимилятов по органам растения и побега, названным в физиологии донорно-акцепторными отношениями, уделяется большое внимание и разрабатывается целый ряд методов для их характеристики и оценки с целью использования в селекции на продуктивность. Большая работа в этом направлении проведена и в лаборатории физиологии ВНИИ риса в период 2013-2016 гг, с целью изучения физиологических механизмов, определяющих формирование разной урожайности у сортов риса. Материалом исследования служили 4 сорта риса, близких по продолжительности вегетационного периода, из них два – Рапан, Визит – интенсивного типа, а другие два – Соната и Атлант – экстенсивного типа. Исследования проводилась в вегетационно-микрополевых опытах – в железобетонных микрочеках, заполненных почвой с рисовых чеков, в которых поддерживался режим орошения риса, характерный для полевых условий. Удобрения в виде сульфата аммония, суперфосфата и хлористого калия вносили в двух дозах:  $\text{N}_{24}\text{P}_{12}\text{K}_{12}$  и  $\text{N}_{36}\text{P}_{18}\text{K}_{18}$  г действующего вещества на  $1 \text{ m}^2$  посева. Установлено, что исследуемые типы сортов мало различались по параметрам фотосинтетической деятельности растений. Они образовали близкие по биомассе посева на единице площади. Сорта значительно различались по урожайности. Она была у интенсивных генотипов значительно выше, чем у экстенсивных, что определялось характером распределения ассимилятов по органам побега. Разное распределение ассимилятов по органам побега у этих типов сортов наблюдается в основном в фазу выхода в трубку, и оно хорошо проявляется в фазу цветения. Так масса образовавшейся метелки в эту фазу у интенсивных сортов Рапан и Визит на фонах  $\text{N}_{24}\text{P}_{12}\text{K}_{12}$  и  $\text{N}_{36}\text{P}_{18}\text{K}_{18}$  составила 0,37-0,40 г, а её доля в общей массе побега равнялась 14-15 %, тогда как у экстенсивных генотипов Соната и Атлант на этих же фонах минерального питания она соответственно составила 0,32-0,33 г и 12 %. Повышенная масса метелки в фазу цветения у интенсивных сортов определяется большим числом сформировавшихся на ней колосков, в которых происходит образование и налив зерновок в период созревания. Анализ элементов структуры урожая при полной спелости показал, что у этих типов сортов сформировалось в метелке 80-95 штук зерновок с общей их массой 1,60-1,90 г, тогда как у экстенсивных сортов образовалось 60-70 зерновок с массой 1,30-1,50 г. Меньшая продуктивности метелки у экстенсивных генотипов риса связана с недостаточным притоком к её формирующимся структурам ассимилятов побега, используемых в большей мере на образование более мощного стебля. Установлено, что его масса у сортов Соната и Атлант в фазу цветения на повышенном и высоком фонах минерального питания составила 1,70-2,00 г, а его доля в общей массе побега равнялась 67-69 %, тогда как у интенсивных сортов Рапан и Визит она соответственно составила 1,50-1,60 г с долей 60-63 %. Более высокая масса стеблей у экстенсивных сортов риса связана не только с образованием у них более развитых анатомических структур, но и с накоплением в их тканях запасных углеводов – сахаров и крахмала, используемых в период созревания на налив зерновок. Установлено, что содержание этих углеводов в стеблях в фазу цветения у сортов Соната и Атлант на фоне  $\text{N}_{24}\text{P}_{12}\text{K}_{12}$  составило 23,9-27,1 % при абсолютной их величине 0,44-0,48 г на стебель, тогда как у интенсивных сортов Рапан и Визит их соответственно содержалось 18,1-20,5 % и 0,27-0,32 г/стебель. Усиленный поток ассимилятов побега у экстенсивных сортов к развивающемуся стеблю в фазу выхода в трубку увеличил его массу, сопротивляемость на изгиб и привел к повышению устойчивости генотипов к полеганию: на фоне  $\text{N}_{24}\text{P}_{12}\text{K}_{12}$  полегание не наблюдалась, а на фоне  $\text{N}_{36}\text{P}_{18}\text{K}_{18}$  не превышало 10 %, тогда как у интенсивных сортов на этих фонах питания доля полегших растений в посеве достигала 40-50 %. Разная направленность распределения ассимилятов и других пластических веществ растения по его органам в процессе формирования урожая зерна у интенсивных и экстенсивных сортов риса характеризуется коэффициентом хозяйственной эффективности фотосинтеза ( $K_{\text{хоз}}$ ). В наших опытах  $K_{\text{хоз}}$  у интенсивных сортов Рапан и Визит на фоне  $\text{N}_{24}\text{P}_{12}\text{K}_{12}$  составил 48-49 %, а на фоне  $\text{N}_{36}\text{P}_{18}\text{K}_{18}$  – 44-46 %, а у экстенсивных сортов Соната и Атлант он был существенно ниже и составил 40-43 и 37 %. Соответственно была ниже и урожайность у экстенсивных генотипов. Изученные признаки донорно-акцепторной системы у растений интенсивных и экстенсивных сортов риса имеют большое значение при оценке на продуктивность и адаптивность.

## Морфофизиологические признаки, связанные с полеганием растений интенсивных и экстенсивных сортов риса

Скаженник М.А., Воробьев Н.В., Ковалев В.С., Гаркуша С.В., Пишеницына Т.С., Балясный И.В.

Всероссийский научно-исследовательский институт риса: п. Белозерный, 3, Краснодар, Россия  
[sma\\_49@mail.ru](mailto:sma_49@mail.ru)

Рис (*Oryza sativa* L.) один из наиболее ценных пищевых продуктов для более половины населения мира. В настоящее время (2014-2015 гг.) посевы его размещены в 116 странах на площади 160 млн. га, годовое производство зерна в мире составляет около 740 млн. т. По урожайности (средняя в мире 4,5 т/га), рис занимает первое место среди всех зерновых культур, а по посевным площадям и валовому сбору – второе место в мире В 2015 г. посевная площадь в России составила 199,4 тыс. га. В основном рисопроизводящем регионе страны – Краснодарском крае урожайность достигла 7,0 т/га, а по валовому сбору – 945 тыс. тонн. В перспективе увеличение производства рисовой продукции на фоне сокращения импортных поставок можно обеспечить путем внедрения новых сортов и технологий их возделывания, своевременной сортосмены, раздельной уборке зерна, экономически обоснованного ценообразования. Одна из основных причин снижения урожая – полегание посевов зерновых культур. При этом потери урожая происходят по физиологическим и механическим причинам: нарушается фотосинтетическая деятельность растений, затрудняется транспорт ассимилятов из вегетативных органов в зерновку, ухудшая её налив, снижаются физические и технологические свойства зерна, сильно затрудняется механизированная уборка. Полегание в период трубкувание – выметывание случается редко, растения поднимаются благодаря сильному растяжению клеток нижней (вогнутой) стороны междоузлий соломины, приводящему к её выпрямлению и ставящему стебель в вертикальное положение. Полегание чаще всего наблюдается в фазу молочно – восковой спелости зерна риса, когда биомасса посевов риса достигает максимальной величины. Биологический урожай при этом снижается мало, однако хозяйственный в результате неполного налива зерновок и их потерь при уборке – существенно. Поэтому, учитывая перспективу развития зернового хозяйства страны, проблему борьбы с полеганием хлебных злаков следует считать ведущей для современного растениеводства, имеющей большое народнохозяйственное значение. А учитывая природную склонность к полеганию растений риса, необходимость тщательного изучения этого явления представляется очевидной. Устойчивость сорта риса к полеганию является важным его свойством. Она входит в число главных его признаков при сдаче на госсортиспытание. Полегание посевов риса оказывает значительное отрицательное влияние на фотосинтетическую и продукционную деятельность растений, так как при этом они изгибаются и уплотняются в нижнем слое ценоза, что вызывает ухудшение их освещения, доступности CO<sub>2</sub>, повышения относительной влажности воздуха, приводящему к заболеванию риса. Все это приводит к снижению продуктивности фотосинтеза, ухудшению налива зерновок и к понижению их качества. Особенно неблагоприятно полегание риса на семеноводческих посевах, вызывающее уменьшение выхода семян из зерновой массы и снижение их посевных качеств. Полегание посевов риса затрудняет реализацию потенциальной продуктивности сорта, поэтому при создании генотипов с высокой урожайностью обращается должное внимание на их устойчивость к полеганию. Показано, что их полегание вызывается недостаточной устойчивостью стебля побегов на изгиб при возрастании на него динамических нагрузок листового аппарата, плодоноса, силы ветрового потока, тяжести капель росы, дождя. У сортов риса недостаточная устойчивость стебля на изгиб возникает при большой норме высева семян, обуславливающей образование загущенных посевов, при повышенной обеспеченности растений азотом, при глубоком слое воды на рисовом поле. Однако уровень полегания посевов риса в значительной степени зависит от особенностей продукционного процесса у сортов этой культуры. Проведенные исследования показали, что у генотипов интенсивного типа, к которым относятся Рапан, Визит, Гамма ассимиляты фотосинтеза в период кушение-трубкувание растений в большей мере используются на образование элементов продуктивности метелки и в меньшей степени на формирование стебля, что приводит к повышенной продуктивности плодоноса и урожайности этих сортов, но с меньшей устойчивостью их посевов к полеганию. У сортов экстенсивного типа, к которым относятся Соната и Атлант, ассимиляты фотосинтеза в период кушения-трубкувания растений в большей мере, чем у интенсивных сортов потребляются на образование стебля, и в меньшей степени на формирование элементов продуктивности метелки. Это приводит к образованию плодоноса с пониженной продуктивностью и к снижению урожайности, но к повышению устойчивости посевов этих сортов к полеганию. Интенсивные и экстенсивные сорта риса эффективно используются в производстве на разных по плодородию рисовых полях. При оценке устойчивости сортов риса к полеганию используется ряд методов. Нами разработан новый эффективный способ такой оценки, который заключается в определении величины сопротивления нижней части стебля, включающий первое и второе междоузлия соломины, на изгиб. Его сопротивление у интенсивных сортов составляет 56-63 г, а у экстенсивных – 66-80 г, а коэффициент его корреляции с уровнем полегания посевов исследуемых генотипов в полевых условиях достигает -0,99. Метод используется во ВНИИ риса при массовой оценке селекционных образцов на устойчивость к полеганию.

**Налив зерновок интенсивных и экстенсивных сортов риса***Скаженник М.А., Воробьев Н.В., Ковалев В.С., Гаркуша С.В., Пшеницына Т.С., Балясный И.В.*Всероссийский научно-исследовательский институт риса: п. Белозерный, 3, Краснодар, Россия  
[sma\\_49@mail.ru](mailto:sma_49@mail.ru)

Важным этапом онтогенеза риса является период созревания, когда метаболизм всех органов растения переключается на снабжение развивающихся зерновок необходимым пластическим материалом. О протекании этих процессов можно судить по массе 1000 зерен, присущей сорту. Снижение величины этой массы указывает на недостаточную сбалансированность донорно-акцепторных связей в растениях, обусловленную выращиванием сортов в неблагоприятных условиях, в том числе на повышенных фонах азотного питания. Следует отметить, что в период образования и налива зерна у злаков метаболизм перестраивается на снабжение генеративных органов ассимилятами и минеральными элементами. От интенсивности перемещения этих соединений из вегетативных органов в колос, метелку и зависят темпы налива зерновок и масса их 1000 штук. Установлено, что разная урожайность сортов риса в основном определяется неодинаковой продуктивностью их метелок, связанной с неодинаковым числом зерен и их абсолютной массой (массой 1000 штук) в плодоносах. Образование высокопродуктивной метелки сортов риса происходит по генетической программе их роста и развития, когда метаболизм растения тесно связан с обеспечением развивающихся зерновок углеродистыми и азотистыми метаболитами. Их интенсивное перемещение в метелку риса определяется её аттрагирующей активностью, регулируемой гормонами и количеством на ней зерновок. Основными соединениями их налива являются запасные углеводы вегетативных органов и ассимиляты фотосинтеза растений в период образования зерновок. Высокая урожайность с хорошим качеством зерна формируется при оптимальной обеспеченности развивающихся зерновок исходными метаболитами. В ходе изучения налива зерна интенсивных и экстенсивных сортов риса были установлены существенные различия в этом процессе, которые сказываются на их урожайности и качестве зерна, что представляет большой интерес для селекции и технологии возделывания этой культуры. Формирование повышенной продуктивности сортов зерновых культур, в том числе и риса, связано с более эффективным использованием ассимилятов фотосинтеза и запасных веществ растений на образовании урожая зерна. Интенсивные и экстенсивные сорта риса различаются по накоплению и уровню мобилизации пластических веществ побегов на налив зерновок, что оказывает влияние на массу 1000 зерен и урожайность этих генотипов. Однако количественные параметры образования и использования ассимилятов, характеризующиеся как донорно-акцепторные связи, у этих типов сортов исследованы недостаточно, и их изучение имеет значение при оценке селекционных образцов на продуктивность, что явилось нашей задачей. Представлены результаты мелкоделяночного опыта по изучению интенсивности налива зерна и урожайности шести сортов риса – Рапан, Визит, Флагман, Гамма (интенсивные) и Соната, Атлант (экстенсивные) на двух фонах минерального питания. Одним из важных источников питания развивающихся зерновок риса являются неструктурные углеводы, накапливаемые в стеблях (в солоmine вместе с влагалищами листьев) в виде крахмала и сахарозы в период выхода в трубку и цветения растений вплоть до начала налива зерновок. Величина запасов углеводов, накопленных в стеблях до цветения растений, имеет большое значение для полноценного налива зерновок. На это указывает высокая прямая связь ( $r = 0,74 \pm 0,21 - 0,87 \pm 0,25$ ) между их содержанием и массой 1000 зерен. В период созревания риса эти соединения интенсивно используются на налив зерновок, уровень их мобилизации составляет 80-90%, а их доля в массе зерновок имеет тесную прямую связь ( $r = 0,71 \pm 0,13$ ) с массой 1000 зерен. Показана пониженная обеспеченность развивающихся зерновок метаболитами у интенсивных сортов на фонах  $N_{24}P_{12}K_{12}$  и  $N_{36}P_{18}K_{18}$  г д.в. на  $1\text{ м}^2$ , которая оказала влияние на массу 1000 зерен и доля запасных углеводов в массе зерновок у них составила 14,13-19,11 %, а у экстенсивных – 24,03-30,51 %. Поступление ассимилятов в зерновки экстенсивных сортов было на 13,7-16,8 % выше, чем у интенсивных генотипов, о чем можно судить по величине образования их массы в расчете на 100 штук и интенсивности их налива в расчете за одни сутки (13,2-17,0 %). Масса 1000 зерновок имеет положительную связь с величинами этих признаков, которые могут характеризовать типы сортов (интенсивный или экстенсивный).



## Уборочный индекс и его связь с морфофизиологическими признаками интенсивных и экстенсивных сортов риса

*Скаженник М.А., Воробьев Н.В., Ковалев В.С., Гаркуша С.В., Пшеницына Т.С., Балясный И.В.*

Всероссийский научно-исследовательский институт риса: п. Белозерный, 3, Краснодар, Россия  
[sma\\_49@mail.ru](mailto:sma_49@mail.ru)

Исследования физиологических процессов, определяющих разную продуктивность сортов зерновых культур, в том числе и риса, показали, что повышение их хозяйственного урожая, достигнутое в ходе селекции, произошло не за счет активации работы фотосинтетического аппарата, а в основном вследствие изменения характера распределения ассимилятов в растении в течение онтогенеза и связанного с более эффективным использованием их в процессах роста и формирования репродуктивных и запасающих органов, обуславливающих повышение уборочного индекса –  $K_{хоз}$ . По данным целого ряда исследователей, величина этого показателя у стародавних сортов зерновых культур составляла всего 28-32 % и возросла у современных сортов до 45-50 %. Повышение  $K_{хоз}$ , – один из главных резервов селекции на ближайшую перспективу. Значение этого показателя у разных образцов значительно варьирует, что облегчает и позволяет широко использовать его при оценке селекционных форм на продуктивность. Вместе с тем его величина значительно изменяется в зависимости от агротехнических факторов и её существенное отклонение от уровня, присущего возделываемому сорту, указывает на неблагоприятные условия выращивания и на необходимость оптимизации технологии возделывания риса. В агротехнических опытах величина  $K_{хоз}$  является важнейшим показателем состояния посевов риса – их густоты и обеспеченности элементами минерального питания. Высокие значения этого показателя свидетельствуют об оптимальной структуре агрофитоценозов, образующихся при оптимальной густоте стояния растений и нормальном обеспечении их азотом. Большое значение показателя  $K_{хоз}$  при оценке селекционных образцов на продуктивность, а также посевов зерновых культур на их состояние и урожайность, вызывает необходимость изучения физиологических причин, определяющих его разную величину у сортов и ценозов. Однако они раскрыты еще не в полной мере. А.Т. Мокроносковым показано, что увеличение показателя  $K_{хоз}$  у зерновых культур произошло в результате совершенствования системы донорно-акцепторных отношений в растениях в процессе селекции на повышенную продуктивность. При этом возникли изменения и в морфофизиологическом типе растения – снизилась его высота, увеличилась масса запасающих органов. Более основательно изучены физиологические причины увеличения  $K_{хоз}$  у сортов яровой пшеницы В.А. Кумаковым. Им показано, что у данной культуры повышение его произошло в результате усиления ростовой функции колоса, определяющей его потенциальную продуктивность. Реализация её осуществляется в фазу налива зерновок путем увеличения фотосинтетического потенциала (ФП) побега в этот период и более полной мобилизации запасающих соединений стебля. О причинах повышения  $K_{хоз}$  у сортов риса имеются некоторые сведения в ряде работ. В.С. Ковалевым показана тесная прямая связь между величиной  $K_{хоз}$  и озерненностью метелки у сортов риса, которая свидетельствует об усиленной ростовой функции плодоноса до цветения и интенсивном притоке ассимилятов к зерновкам в период их налива. Для прямого посева риса необходимы сорта, формирующие в благоприятных условиях оптимальный по плотности стеблестой с хорошо озерненными метелками, определяющие высокую величину  $K_{хоз}$  и урожайность посевов. В связи с этим важно выявить у российских сортов риса признаки и показатели, имеющие тесную связь с величиной  $K_{хоз}$  и урожайностью, для использования их при оценке селекционных образцов на продуктивность. Исследования проводили в период 2013-2016 гг. во ВНИИ риса с целью изучения физиологических механизмов, определяющих формирование разной урожайности у сортов риса. Объектом исследования служили 6 сортов риса, близких по продолжительности вегетационного периода, из них четыре – Рапан, Визит, Флагман и Гамма – интенсивного типа, а два – Соната и Атлант – экстенсивного типа. Работа проводилась в вегетационно-микрорелевальных опытах – в железобетонных микрочеках, заполненных почвой с рисовых чеков, в которых поддерживался режим орошения риса, характерный для полевых условий. Удобрения в виде сульфата аммония, суперфосфата и хлористого калия вносили в двух дозах:  $N_{24}P_{12}K_{12}$  и  $N_{36}P_{18}K_{18}$  г действующего вещества на 1 м<sup>2</sup> посева. Определяли параметры фотосинтетической деятельности – ИЛП, ФП, ЧПФ, фитомассу с м<sup>2</sup>, в фазы цветения и полной спелости. В пробах растений в фазу цветения определяли массу побега, массы стебля и метелки и их доли в массе побега, в фазу полной спелости – уборочный индекс ( $K_{хоз}$ , %), полегание посевов, урожайность и элементы её структуры – число зерен на метелке и на м<sup>2</sup> посева. Установлено, что исследуемые типы сортов мало различались по параметрам фотосинтетической деятельности растений. Они образовали близкие по биомассе посева на единице площади. Сорта значительно различались по урожайности. Она была у интенсивных генотипов значительно выше, чем у экстенсивных, что определялось характером распределения ассимилятов по органам побега. Значительная часть их у интенсивных сортов использовалась на образование зерна побега, что выразилось в увеличении числа зерен на метелке, на м<sup>2</sup> посева, повышало долю зерна в общей биомассе побега и урожайность. Более значительная часть ассимилятов экстенсивных сортов использовалась на образование более массивных стеблей, что определяло повышение устойчивости их посевов к полеганию, снижению уборочного индекса и урожайности этих генотипов. Полученные признаки продуктивности и устойчивости сортов к полеганию используются при оценке селекционных образцов на урожайность.

## Устойчивость березовых насаждений в зоне воздействия промышленности Красноярска

Скрипальщикова Л.Н., Стасова В.В., Бажина Е.В.

Институт леса им. В. Н. Сукачева СО РАН – Обособленное подразделение ФИЦ КНЦ СО РАН. Академгородок,  
50/28, Красноярск, Россия  
[lara@ksc.krasn.ru](mailto:lara@ksc.krasn.ru)

Пригородные леса выполняют важные для жизнедеятельности человека средообразующие, санитарно-гигиенические и рекреационные функции. Изучение устойчивости таких лесных сообществ по отношению к постоянно изменяющейся природной среде в настоящее время актуально.

Ведется многолетний комплексный мониторинг за экологическим состоянием березняков разнотравных, произрастающих в Красноярской лесостепи в зоне синергического воздействия выбросов металлургической промышленности, тепловых станций, автомобильного транспорта г. Красноярска и рекреации. Экологическое состояние березняков и их устойчивость к антропогенному воздействию изучается на экосистемном, организменном и тканевом уровнях.

Объектами исследований служили разные по уровню антропогенного воздействия березняки V класса возраста, II-III классов бонитета, полнотой 0,5-0,9. Уровни техногенных нагрузок на березовые массивы были определены по аккумуляции в ассимиляционной массе техногенной пыли, содержанию общего фтора и тяжелых металлов. В качестве биоиндикационных показателей исследованы морфологические характеристики проводящих тканей ствола и характеристики ассимиляционного аппарата: флуктуирующая асимметрия листовой пластинки, морфолого-анатомические показатели тканей листьев и содержание фотосинтетических пигментов.

В многолетних исследованиях применялись общепринятые лесо-экологические, физиолого-биохимические, биоиндикационные, химико-аналитические и биоинформационные методы. Аккумуляция пыли определялась седиментометрическим методом. Определение содержания тяжелых металлов и общего фтора в ассимиляционной массе проводилось по сертифицированным методикам в аккредитованной лаборатории.

В результате многолетних исследований для березы повислой (*Betula pendula* Roth), произрастающей в Красноярской лесостепи, выявлены изменения ее устойчивости к многолетнему антропогенному воздействию. Низкая стабильность развития в насаждениях березы повислой выявлена в период с 2003 по 2013 гг. Жизненное состояние березняков характеризовалось как ослабленное. Установлено, что березняки разнотравные испытывали высокие техногенные нагрузки. В ассимиляционной массе березняков содержались повышенные концентрации пыли, фтора, тяжелых металлов. В техногенной пыли на поверхности листьев обнаружены следующие элементы: Cu, Ni, Zn, Co, Al, Cd, Pb. Многолетний техногенный пресс и высокие рекреационные нагрузки привели к ослаблению устойчивости березняков разнотравных в зоне воздействия токсичных выбросов. Различия в сочетаниях концентраций изученных тяжелых металлов проявлялись в статистически значимых изменениях величины и структуры прироста древесины в стволах деревьев. Повышенное содержание как стронция, так и цинка в листьях березы повислой сопровождалось уменьшением ширины годичного слоя, увеличением числа лучей и сосудов, уменьшением диаметров сосудов, а повышенное содержание никеля - уменьшением среднего диаметра сосудов и увеличением числа лучей в древесине стволов. На ослабление устойчивости указывали также повышенные показатели флуктуирующей асимметрии листьев, и изменения анатомо-морфологических характеристик тканей листьев березы в сравнении с фоновыми условиями.

В 2014-2016 гг. исследованиями стабильности развития березовых фитоценозов не выявлены нарушения их гомеостатического равновесия по сравнению с предыдущим периодом. В данный период наблюдений в ассимиляционной массе не установлено критических значений содержания пыли, фтора и тяжелых металлов. Индексы флуктуирующей асимметрии листовой пластинки характеризуют ее развитие как норму. Уменьшение уровней загрязнения атмосферы привели к повышению содержания основных фотосинтетических пигментов в загрязненных березняках. Выявлены особенности анатомической структуры тканей листьев и стволов березы повислой при различных техногенных нагрузках и фоновых условиях. Биоморфологические исследования репродуктивных структур также свидетельствовали об отсутствии нарушений развития.

Таким образом, изменения уровней техногенного воздействия на березовые лесные массивы Красноярской лесостепи, произрастающие по основному переносу ветровых потоков, привело к восстановлению процессов роста и развития деревьев и в конечном итоге к увеличению средообразующей роли фитоценозов.

## Воздействие дивиниловых эфиров и эпокиспиртов – продуктов липоксигеназного каскада – на фитопатогены

Смирнова Е.О., Горина С.С., Петрова О.Е., Топоркова Я.Ю., Мухтарова Л.Ш., Гречкин А.Н.

КИББ КазНЦ РАН Лобачевского 2/31, Казань, Россия  
[yelena.smirnova@aiesec.net](mailto:yelena.smirnova@aiesec.net)

Оксилипины – вещества, играющие важную роль при формировании ответа на стрессовые факторы, к которым в том числе относится воздействие фитопатогенных организмов. Оксилипины образуются ферментативно или спонтанно. Оксилипины, синтезированные растением спонтанно, носят название фитопростанов. Биосинтез оксилипинов с участием ферментов получил название липоксигеназного каскада. Данный каскад включает четыре ветви реакций: алленоксидсинтазную, гидропероксидлиазную, дивинилэфирсинтазную и эпоксиалкогольсинтазную. Функции оксилипинов, синтезированных в алленоксидсинтазной и гидропероксидлиазной ветвях каскада, хорошо изучены, в то время как о биологических свойствах дивиниловых эфиров и эпокиспиртов – продуктов функционирования двух других ветвей – практически ничего неизвестно. В данной работе был проведен анализ антибактериальной и фунгицидной активностей дивиниловых эфиров и эпокиспиртов.

Ранее нами уже было показано, что инокуляция клетками *Pectobacterium atrosepticum* SCRI1043 листьев льна-долгунца ведет к увеличению содержания в них дивиниловых эфиров, а именно – ( $\omega$ 5Z)-этеролоеновой кислоты. Мы проверили биологическую активность дивиниловых эфиров (( $\omega$ 5Z)-этеролоеновой кислоты, этеролоеновой кислоты и (11Z)-этеролоеновой кислоты) в отношении *Pectobacterium atrosepticum* SCRI1043, *Xanthomonas vesicatoria* и *Pseudomonas syringae*. Исследуемые продукты добавляли в культуру клеток фитопатогенов, после чего определяли количество колониеобразующих единиц (КОЕ). Через 24 часа после добавления к культуре клеток *Pectobacterium atrosepticum* SCRI1043 этеролоеновой и (11Z)-этеролоеновой кислот в концентрации 0,5 мМ проявлялся бактериостатический эффект, который через 48 часов снижался. ( $\omega$ 5Z)-Этеролоеновая кислота в той же концентрации обладает бактерицидным действием, через 48 часов в культуре не было обнаружено живых клеток. Все перечисленные дивиниловые эфиры в концентрации 0,25 мМ обладают бактериостатическим действием в первые 24 часа, после 48 часов титр колоний был эквивалентен контролю. Результаты экспериментов с *Xanthomonas vesicatoria* и *Pseudomonas syringae* были сходными. Однако в случае с *Xanthomonas vesicatoria* ( $\omega$ 5Z)-этеролоеновая кислота в концентрации 0,25 мМ бактериостатических свойств не проявляла. Также следует отметить тот факт, что 13-гидроперекись  $\alpha$ -линоленовой кислоты (13-ГПОТ) в концентрации 0,5 мМ, которая использовалась как один из контролей, обладала бактерицидным действием для *Xanthomonas vesicatoria*; спустя 48 часов титр КОЕ этого фитопатогена был равен нулю. Для *Pseudomonas syringae* 13-ГПОТ в той же концентрации обладает бактериостатическим эффектом; спустя 24 часа на чашках были обнаружены лишь единичные колонии, спустя 48 часов эффект не снижался.

В отличие от дивиниловых эфиров эпокиспирты не оказывали антибактериального эффекта. Это было показано в экспериментах с добавлением в культуру *Pectobacterium atrosepticum* SCRI1043 9,10-эпокси-13-гидрокси- и 9,10-эпокси-13-гидроперокси-октадеценовых кислот. Через 24 и 48 часов после добавления эпокиспиртов титр КОЕ не менялся по сравнению с контролем. Это так же было подтверждено нами в экспериментах по инфицированию проростков сои патогеном *Pseudomonas syringae*. Соя – первое высшее растение, у которого была обнаружена эпоксиалкогольсинтаза, однако инфицирование не приводило к изменению уровня экспрессии гена этого фермента.

Для проверки фунгицидной активности эпокиспиртов нами были проведены эксперименты с использованием *Saccharomyces cerevisiae* и *Fusarium oxysporum*. Нами было обнаружено, что некоторые эпокиспирты обладают ингибирующими рост грибов свойствами. Через сутки наблюдалась зона ингибирования роста *F. oxysporum* вокруг дисков с энантиомерами 9,10-эпокси-13-гидроперокси-октадеценовой кислоты. Кроме того, через сутки наблюдалось ингибирование роста *S. cerevisiae* после добавления энантиомеров того же эпокиспирта.

Таким образом, дивиниловые эфиры, по всей вероятности, формируют устойчивость растений к бактериальным фитопатогенам, в то время как эпокиспирты сдерживают размножение фитопатогенных грибов. Результаты проделанной работы могут быть использованы в сельском хозяйстве для разработки методов контроля заболевания растений на основе регулирования естественных физиологических процессов.

Работа проведена при поддержке Российского научного фонда (грант 16-14-10286).

## Структурно-функциональные особенности эпилитных лишайников в условиях побережья Белого моря

Сонина А.В., Цунская А.А., Румянцева А.Д.

Петрозаводский государственный университет, пр. Ленина, 33, Петрозаводск, Россия  
[angella\\_sonina@mail.ru](mailto:angella_sonina@mail.ru)

Целью настоящего исследования было изучение анатомических и физиологических особенностей трех видов эпилитных лишайников (*Umbilicaria torrefacta* (Lightf.) Schrader, *Physcia caesia* (Hoffm.) Fűrnr., *Physcia dubia* (Hoffm.) Lettau) с разными морфологическими признаками талломов и произрастающие в сходных условиях среды. Исследование проводилось на территории Республики Карелия, на побережье Белого моря в окрестностях пос. Кереть (66°16'45"N, 33°33'54"E) Лоухского района, Карельский берег, Кандалакшский залив в июле-августе 2014 и 2016 гг.

Данные виды широко распространены на территории Карелии. *U. torrefacta* – облигатный эпилит, виды *Ph. caesia* и *Ph. dubia* могут обитать как на коре деревьев, так и на камнях. На исследованной территории встречены только на прибрежных валунах. Для всех видов фототрофный бионт – зеленые одноклеточные водоросли рода *Trebouxia*. Вид *U. torrefacta* имеет умбиликатный таллом в виде распростертой, мелкокладчатой пластины, темно-коричневого цвета, прикрепленной к субстрату гомфом. Арктоальпийский вид с голарктическим распространением. Виды *Ph. caesia* и *Ph. dubia* характеризуются листоватым талломом с узколинейными лопастями, плотно прирастающими к субстрату ризинами. Талломы светло-серого цвета с хорошо развитыми соралиями. Оба вида космополиты, нитрофилы. Анализируемые виды на побережье Белого моря занимают широкий спектр биотопов, встречаются на валунах в пределах всей супралиторали.

Проанализировано 16 образцов лишайников (каждый образец – 20 талломов): 4 образца *U. torrefacta*, по 6 образцов *Ph. caesia* и *Ph. dubia*. Анатомические исследования включали измерение ширины анатомических слоёв: верхнего и нижнего корового, альгального, сердцевинного, ширины среза. Сделано более 1200 срезов и порядка 3500 измерений. Определение фотосинтетических пигментов выполнено методом спиртовой экстракции спектрофотометрически (UNICOSPECTROPHOTOMETER 2800). Пигменты определяли в образцах с трехкратной биологической повторностью и девятикратной химической.

В ходе работы установлено, что у вида *Ph. caesia* ширина анатомических слоев и микобионта, и фотобионта варьирует незначительно ( $CV < 11\%$ ). Тогда как в образцах талломов *Ph. dubia* и *U. torrefacta* отмечается высокая вариабельность ширины всех слоев: коровых, альгального, сердцевинного ( $CV > 20\%$ ). При попарном сравнении ширины анатомических слоев на основании однофакторного дисперсионного анализа выявлены значимые различия между всеми слоями у представителей разных родов и различия между сердцевинным, альгальным и нижним коровым слоем у лишайников внутри рода *Physcia*, незначительно варьирует ширина верхнего корового слоя и в целом ширина таллома.

Таллом умбиликарии значительно тоньше, чем талломы фисций, эта разница достигается в основном за счет размеров, также наполовину меньших, внутренних слоев: альгального, сложенного клетками фотобионта и сердцевинного, сложенного гифами гриба. Различаются и соотношения ширины таллома к альгальному слою, так для умбиликарии это соотношение имеет значения 2,5(3) : 1, у обоих видов рода фисция 1,5(1,8) : 1. Что указывает на долю альгального слоя в талломе лишайника, то есть водорослевый слой в талломе умбиликарии занимает меньший объем, чем в талломах фисций.

Анализ содержания фотосинтетических пигментов, рассчитанных на единицу сухого веса таллома, показал высокий уровень варьирования количества хлорофиллов и каротиноидов в образцах у трех видов лишайников ( $CV > 30\%$ ). У вида *Ph. caesia* при этом больше всего варьирует содержание каротиноидов ( $CV = 74\%$ ), а, следовательно, и соотношение хлорофиллов к каротиноидам ( $CV = 58\%$ ), средний уровень варьирования отмечен для объема светособирающего комплекса ( $CV = 16\%$ ). У вида *Ph. dubia* меньше варьируют ( $10\% < CV < 20\%$ ) расчетные показатели – отношение хлорофиллом, которые изменяются от 1,6 до 2,5 и также объем светособирающего комплекса. Для вида *U. torrefacta* отмечается низкое варьирование расчетных показателей, таких как отношение хлорофиллов и отношение суммы хлорофиллов к каротиноидам. Соотношение остается более постоянным за счет комплексного изменения содержания пигментов, так с увеличением хлорофилла *a*, увеличивается содержание хлорофилла *b* и каротиноидов. Низкие значения варьирования отмечены для объема ССК, как и у других представителей.

Настоящее исследование, выполненное на примере трех видов эпилитных лишайников в условиях побережья Белого моря, показало, что в условиях супралиторали, где складываются гетерогенные условия для обитания лишайников, в связи влиянием приливно-отливного и штормового режимов, адаптированность вида *Ph. caesia* обеспечивается за счет варьирования количества фотосинтетических пигментов альгального компонента при стабильности структуры таллома, а у видов *U. torrefacta*, *Ph. dubia* за счет варьирования как анатомических структур обоих симбионтов, так и за счет варьирования количества фотосинтетических пигментов. Таким образом, вид *Ph. caesia* проявляет функциональную адаптацию к условиям среды, а виды *U. torrefacta*, *Ph. dubia* проявляют комплексную структурно-функциональную адаптацию.

## Участие анионной пероксидазы картофеля в регуляции жасмонат-зависимых реакций при патогенезе

Сорокань А.В., Бурханова Г.Ф., Кулуев Б.Р., Максимов И.В.

ФГБУН Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН 450054, пр. Октября 71, г. Уфа, Башкортостан, Россия Тел.: тел. +7 (347) 2356088; факс +7 (347) 2356088  
[fourtyanns@googlegmail.com](mailto:fourtyanns@googlegmail.com)

Неоднократно показано участие пероксидаз в устойчивости растений к различным стрессовым факторам. Однако пероксидазы представлены множеством изоформ, кодируемых мультигенным семейством, и связь гена и его белкового продукта устанавливается с трудом из-за значительных пост-транскрипционных модификаций данного класса белков. Тем не менее, это необходимо для выяснения роли отдельных изоформ и использования в генетическом скрининге устойчивости растений либо в селекционной работе. Основываясь на имеющихся данных о возможности изучения роли того или иного гена 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.

В экспериментах использовались стерильные пробирочные растения картофеля устойчивого к фитофторозу сорта Невский, и полученной на его основе линии asAPO с подавленной экспрессией гена анионной пероксидазы. Растения 30 сут культивировали на средах с добавлением 0.1 мМ жасмоновой (ЖК) или 1 мМ салициловой (СК) кислот, либо обрабатывались 2,5 мМ перекисью водорода (20 мкл/раст) или 5 мМ аскорбиновой кислоты (ASB, ловушка для перекиси) за 24 часа до инфицирования. Затем контрольные и обработанные растения заражали нанесением на каждый лист по 5 мкл суспензии зооспор патогена *P. infestans* ( $10^5$  спор/мл). Визуальные симптомы болезни оценивали по % площади поражения к площади листовой пластинки. Тотальную РНК выделяли с помощью реактива Тризол (Molecular Research Center, 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 *PR-6* (ЖК-чувствительный), а так же генов биосинтеза ЖК (алленоксидсинтазы (AOS) и 12-оксо-(10,15Z)- фитодиеновой кислоты -редуктазы (OPR).

Было выявлено, что длина междоузлий на растениях линии asAPO сокращается по направлению к верхушечной меристеме. Так, длина 3 сверху междоузлия в растениях дикого типа составляет  $4.75 \pm 0.52$  мм, а в растениях линии asAPO –  $2.12 \pm 0.43$ . Длина четвертого от верхушечной меристемы междоузлия в растениях asAPO была почти вдвое короче, чем в растениях дикого типа. Однако, растения линии asAPO не имели существенных ростовых отличий от растений дикого типа и не обнаруживали снижения длины стебля под воздействием жасмоната, наблюдаемого в случае не трансформированных растений. Растения линии asAPO характеризовались высокой степенью восприимчивости к фитофторозу. При этом ясно, что если в растениях дикого типа воздействие жасмоната увеличивало устойчивость к возбудителю этого заболевания, то в трансформированных растениях этот эффект ЖК практически отсутствовал. Транскрипционная активность ЖК-зависимого гена и генов биосинтеза ЖК в растениях трансгенной линии при инфицировании патогеном не увеличивалась, как это происходило в растениях дикого типа.

Цитохимическое исследование показало, что трансгенные растения характеризуются намного меньшей, по сравнению с растениями дикого типа, автофлуоресценцией лигнина в местах внедрения патогена и меньшей активностью пероксидаз в клеточных стенках. Интересно, что активность пула пероксидаз в свободно-растворимой фракции белка в растениях линии asAPO была несколько выше, чем в растениях дикого типа как в здоровых, так и в инфицированных растениях, но в ионно-связанной была существенно ниже. Во фракции белка, ковалентно-связанной с клеточной стенкой, активность пероксидаз в здоровых растениях линии asAPO была ниже, чем в растениях исходного сорта, однако увеличивалась в ответ на инфицирование. Следует отметить, что в этой фракции выделяются преимущественно катионные изопероксидазы.

Кроме того, в трансгенных растениях содержание перекиси водорода было существенно снижено по сравнению с растениями дикого типа; индуцированного патогеном окислительного взрыва в них практически не наблюдается, что было показано как биохимическими, так и цитохимическими исследованиями. При этом обработка ловушкой для перекиси водорода приводила к сходным изменениям в растениях дикого типа, а экзогенная перекись водорода частично восстанавливала устойчивость к фитофторозу и транскрипционную активность ЖК-зависимых генов в растениях с подавленной активностью анионной пероксидазы.

Таким образом, вероятно, анионная изопероксидаза, кодируемая геном *M21334*, принимает участие в регуляции образования листьев и пазушных меристем, а так же в формировании устойчивости к *P. infestans*, которая регулируется преимущественно ЖК. Вероятно, этот эффект опосредован ее участием в генерации АФК в клеточных стенках растений.

Работа выполнена в рамках Госзадания № 116020350027-7 (2016-2018) и при частичной поддержке гранта Правительства Республики Башкортостан для молодых ученых.

**Изучение морфогенетического потенциала *Dracocephalum moldavica* L. в культуре *in vitro*****Сосина А.В., Чередниченко М.Ю.**

Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, ул. Тимирязевская, 49,  
Москва, Россия.  
[sosina\\_2012@mail.ru](mailto:sosina_2012@mail.ru)

Змееголовник молдавский (*Dracocephalum moldavica* L.) – однолетнее травянистое лекарственное растение семейства *Lamiaceae* Mart., которое широко используется в медицине, парфюмерии, кулинарии, ландшафтном дизайне, также является отличным медоносом. Как у всех эфиромасличных растений, процентное содержание и состав эфирного масла змееголовника сильно зависит от внешних условий и варьирует при их изменениях. Культивирование *in vitro* позволяет контролировать условия содержания растений и проводить работу в течение всего года. Накопление биологически активных веществ, в основном, индуцируют в суспензионной культуре, перед получением которой необходимо определить условия индукции и характеристики каллусогенеза и органогенеза.

В данном исследовании изучали влияние фитогормонов и регуляторов роста (цитокининов и ауксинов) в различном сочетании и концентрациях на процессы каллусообразования и морфогенеза на трех видах эксплантов *D. moldavica*: междоузлия, листовые пластинки и черешки. Основной питательной средой являлась среда Мурасиге и Скуга (МС). В качестве исходного материала были взяты растения, выращенные на среде МС *in vitro* в течение полтора месяцев, двух сортов – Горыныч и Лимонный аромат. На стеблевых эксплантах и листовых черешках каллус формировался на одних и тех же вариантах сред, но формировался по-разному. В основном, каллусообразование проходило на вариантах с добавлением 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д) в концентрациях 0,2...2 мг/л, при сочетании 0,2 мг/л 2,4-Д с 6-бензиламинопурином (БАП) или кинетином (6-фурфуриламинопурин, кин) в концентрации 1 мг/л и при сочетании 0,5 мг/л индолил-3-масляной кислоты (ИМК) также с 1 мг/л БАП или кин. На листовых пластинках каллус формировался на средах с 0,2 мг/л 2,4-Д + 1 мг/л БАП и 0,2 мг/л 2,4-Д + 1 мг/л кин у двух сортов. На сорте Горыныч каллусогенез с низкой частотой проходил на вариантах с 0,5 мг/л 2,4-Д и 0,5 мг/л ИМК + 1 мг/л БАП. Окраска и характер формирования каллуса отличался на разных вариантах эксперимента. Например, при добавлении только 2,4-Д индуцировался каллус светло-желтого или желтого цвета, при сочетании цитокининов и ауксинов образовывался каллус зеленых оттенков с белыми включениями. Локализация каллуса также различалась: на раневых поверхностях экспланта, по всей его поверхности, внутри с последующим разворачиванием экспланта по мере роста каллуса. Стеблевой морфогенез не наблюдался. Образование корней, в основном, проходило на средах с добавлением 0,5 мг/л ИМК.

## Механизмы низкотемпературной адаптации антенных комплексов ФС II у *Pinus sylvestris* L. в условиях экстремального климата Якутии

Софронова В.Е.

Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН. Проспект Ленина, 41, Якутск, Россия  
[vse07\\_53@mail.ru](mailto:vse07_53@mail.ru)

Снижение фотосинтеза в вечнозеленых растениях в ответ на сокращение фотопериода и сезонное с понижением температуры в осенний период сопровождается адаптацией первичных процессов фотосинтеза, позволяющей избежать накопления избыточной световой энергии и генерации АФК в хлоропластах. Механизмы адаптации включают структурно-функциональную реорганизацию антенных комплексов ФС II, обеспечивающую трансформацию в состояние с высоким нефотохимическим тушением избыточной энергии.

В настоящей работе с начала августа до конца сентября изучали динамику развития фотозащитных процессов в ФС II у *P. sylvestris* в связи с сезонными изменениями окружающей температуры и фотопериода. Для этого в полевых условиях *in vivo* определяли параметры флуоресценции хлорофилла (ФХ):  $\phi_{PSII}$ ,  $\phi_{NPQ}$ ,  $\phi_{E_D}$  – квантовые выходы фотохимического, нефотохимического тушения, и конститутивных (нерегулируемых) потерь энергии. Пигментный состав хвои отслеживали с начала августа до конца ноября. Эксперименты охватывали необходимые этапы формирования морозоустойчивого состояния растений – переход в состояние покоя, затем первую (днем около 5-12°C, ночью около 2-6°C) и вторую (от 0 до -10°C) фазы закалывания, а также вынужденный покой в зимние месяцы.

В условиях Центральной Якутии у *P. sylvestris* выявлено раннее и быстрое по темпам сезонное снижение Хл и повышение величины соотношения Хл  $a/Xл b$  в течение сентября, длившееся около 3.5 недель. Эти наблюдения свидетельствуют том, что одним из долговременных ответов ФСА в течение первой фазы закалывания, связанным с изменениями экспрессии генов, является существенная деградация внешней антенны (ССК II) и снижение эффективного поперечного сечения поглощения ФС II, когда фотопериод был еще достаточно длинным (16...12 ч.), а среднесуточная температура снижалась от  $8.3 \pm 3.1^\circ\text{C}$  до околонулевых значений.

Адаптации также подвергается один из основных механизмов кратковременных реакций ФСА – рН- и Zea зависимое  $qE$  тушение в антенном комплексе ФС II. Сезонная динамика изменения квантового выхода регулируемого NPQ ( $\phi_{NPQ} \approx \phi_{qE}$ ) при умеренных освещенностях – 250-460 мкмоль/(м<sup>2</sup> с) показала наличие трех последовательных фаз: 1) постепенное повышение до максимальных значений с середины августа до середины сентября; 2) сохранение стабильно высоких значений 0.32...0.34 в сентябре при понижении среднесуточной температуры от 6.4 до 1°C; 3) быстрое падение в конце сентября, когда среднесуточные температуры понижались до 0...-3°C. Увеличение  $\phi_{NPQ}$  во второй половине августа может быть обусловлено сменой фаз годичного ростового цикла *P. sylvestris* при сокращении фотопериода. С вхождением в состояние органического покоя в апикальной меристеме побегов прекращаются ростовые процессы, заметно снижается интенсивность фотосинтеза хвои (без изменения соотношения Хл  $a/Xл b$  при среднесуточных температурах 14-16°C). Однако максимальные значения  $\phi_{NPQ}$  наблюдались одновременно с увеличением фракции Zea, сохраняющегося в темное время суток, в 2.4 раза по сравнению с летним показателем. Среднесуточные и ночные температуры в это время составляли  $6.2 \pm 2.3$  и  $4.5 \pm 1.7^\circ\text{C}$  соответственно (18 сентября). Можно предположить, что долговременные адаптивные изменения в макроструктурной организации антенных ПБК ФС II, обогащенных Zea и Лют, позволяют поддерживать высокие значения  $\phi_{NPQ}$  осенью при низких положительных температурах (+1...+10°C), пока функционирует фотосинтетический ЭТЦ и сопряженный перенос протонов в люмен.

Основные изменения пигментного состава хвои завершались в конце сентября. К этому времени при дальнейшем понижении дневных температур до 3.0...-0.6°C, а ночных до 1.2...-4.1°C выявили резкое увеличение содержания Zea, возрастание доли пула пигментов ВКЦ (от 8...10% до 24.7%) и уровня их конверсии (от 0.28 до 0.94). В этих условиях эпексидация Zea в Вио полностью блокирована, о чем свидетельствует ингибирование процессов рН-зависимого нефотохимического тушения ( $\phi_{NPQ}$ ). Одновременно резко возросла величина конститутивного (рН-независимого) тушения  $\phi_{E_D}$  вследствие структурной реорганизации антенных пигмент-белковых комплексов ФС II, включающей конститутивное накопление Zea и сохранение Лют в условиях редуцированной антенны. Необходимо отметить, что этот период совпадает с существенным уменьшением содержания воды в хвое, оттоком не связанной воды в межклетники, что ведет к структурным изменениям компонентов хлоропластов вследствие их дегидратации. В течение второй фазы закалывания, и в зимние месяцы пигментный состав хвои, влияющий на конститутивные формы тушения в антенных комплексах ФСА, практически оставался стабильным.

## Морфогенетические аспекты проблемы целостности и продуктивности пшеницы

Степанов С.А.

Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского.  
Астраханская ул., 83, Саратов, Россия  
[hanin-hariton@yandex.ru](mailto:hanin-hariton@yandex.ru)

Объектом изучения являлась яровая пшеница (*Tr. aestivum*, *Tr. durum*), представленная разными сортами саратовской и инорайонной селекции. Эксперименты, наблюдения и расчёты основных физиологических характеристик роста и развития побега пшеницы осуществлялись по соответствующим методикам.

Один из возможных экспериментальных подходов к решению проблемы взаимоотношений фитомеров побега заключается в нарушении целостности растения путем частичной дефолиации. В наших исследованиях при дефолиации первого листа пшеницы наблюдались различные морфогенетические явления: 1) увеличение или уменьшение длины примордиев других листьев; 2) изменение абсолютной и относительной скорости роста пластинки и влагалища листьев по сравнению с контрольными растениями; 3) изменение активности конуса нарастания побега. Наряду с субстратной функцией, нижние листья, возможно, имеют информационное значение в последующем органогенезе фитомеров побега. В частности, по результатам анализа структуры урожая установлено различие контрольных и опытных растений по числу листьев на стебле, площади листьев главного побега, массе боковых побегов, развитию элементов продуктивности колоса. Кроме того, при анализе структуры зародыша зерновок контрольных и подвергнутых дефолиации (первый лист) растений пшеницы (Саратовская 36, Саратовская 52) наблюдалась меньшая длина примордиев листьев эмбрионального побега зародышей зерновок опытных растений.

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, возникших путем эндо- или экзосимбиоза. Ранее в рамках первой из парадигм была предложена гипотеза В.В. Полевого (1981) об особой роли у растений доминирующих центров (апексы побега и корня), контролирующих все биохимические и физиологические процессы на уровне клетки, тканей и органов. Другой из организменных концепций целостности растения является гипотеза А.Т. Мокороноса (1992), что фитомерные структуры могут представлять донорно-акцепторную единицу, где можно выделить несколько структурно-функциональных и регуляторных элементов. Принимая во внимание работу Н. Винера (1968), на основании электрофизиологических исследований О.В. Зубкус (1979) также было высказано суждение, что система регуляции проявления отдельных функций у растений имеет общие принципы с животным организмом.

Учитывая последовательность заложения конусом нарастания фитомеров и их последующего генезиса, можно предположить, что каждый из фитомеров является полуавтономной системой. В процессе инициации и развития элементов фитомера (узла, междоузлия, листа, почки), формируются элементы системы управления - рецепторы, пути проведения возбуждения, центральные регулирующие элементы, исполнительные элементы (эффektоры) и элементы обратной связи между рецепторами и эффекторами. При этом степень автономности фитомеров, по нашему мнению, определяется наличием и степенью зрелости компонентов системы управления. Изучение последовательности развития элементов отдельных фитомеров (узел → лист → междоузлие → почка → корни) позволяет считать, что центральные регулирующие элементы расположены в узле стебля пшеницы, где объединяются проводящие пучки смежных фитомеров. В составе многих пучков, кроме флоэмы и ксилемы, присутствуют волокна склеренхимы.

В качестве тканей, по которым распространяются различные биоэлектрические потенциалы в побеге растений, в настоящее время рассматриваются клетки флоэмы, в частности ситовидные трубки. Однако более предпочтительно, на наш взгляд, рассматривать в качестве проводников биопотенциалов клетки склеренхимы - волокна и склереиды. Укоренившееся представление об этой ткани, как только механической, подлежит ревизии. В настоящее время во многих работах установлено наличие живого протопласта в клетках склеренхимы. В цитоплазме клеток склеренхимы различных видов растений установлено наличие одного или нескольких (более 10) ядер, вакуолей, многочисленных митохондрий с хорошо развитой системой крист и плотным матриксом, хлоропластов, часто с крахмальными зёрнами, аппарата Гольджи, рибосом, микротелец, элементов ЭПС, отдельных липидных капель. Всё большее число фактов (морфологическое разнообразие клеток, активная цитоплазма, плазмодесмы, специфическая организация оболочек, развитие клеток) позволяют переосмыслить её роль в жизнедеятельности растения.

На основании проведенных нами исследований и анализа литературы, можно рассматривать фитомерный принцип системы регуляции целостности растения как основополагающий принцип регуляции гомеостаза и организации продуктивности пшеницы



## Оценочный критерий устойчивости сортов пшеницы к условиям вегетации - морфогенетический индекс продуктивности

*Степанов С.А.*

Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского.  
Астраханская ул., 83, Саратов, Россия  
[hanin-hariton@yandex.ru](mailto:hanin-hariton@yandex.ru)

Сорта пшеницы, как и любой другой культуры, в производстве существуют в полевых популяциях, где наблюдаются специфические особенности морфогенеза растений. Многообразие реализации морфогенеза у отдельных растений в популяции приводит к формированию в ней нескольких морфофизиологических типов растений, отражающих присущую сортам эпигенетическую гетерогенность в пределах единого сортового генофонда. С момента организации в начале XX в. в Саратовской губернии селекционных учреждений были созданы многие уникальные, засухоустойчивые сорта яровой мягкой пшеницы. Учитывая, что наиболее уязвимыми звеньями продукционного процесса при засухе являются рост и развитие растений, целью работы являлось проведение сравнительной оценки сбалансированности сортов саратовской селекции по элементам продуктивности колоса и разработка морфогенетического критерия устойчивости – морфогенетического индекса продуктивности.

Основные наблюдения и учеты проводились в полевых мелкоделяночных опытах селекционного севооборота НИИСХ Юго-Востока в течение 3-х лет, различающихся по погодным условиям. Объектами изучения были 33 сорта, полученные в разные годы: Полтавка, Лютесценс 62, Эритроспермум 841, Саррубра, Эритроспермум 82/02, Альбидум 43, Саратовская 29, Саратовская 36, Саратовская 42, Саратовская 52, Ершовская 32, Саратовская 55, Саратовская 56, Саратовская 58, Альбидум 28, Саратовская 60, Альбидум 29, Альбидум 31, Прохоровка, Саратовская 62, Саратовская 64, Саратовская 66, ЮВ 2, Саратовская 68, Саратовская 70, Добрыня, ЮВ 4, Саратовская 71, Саратовская 72, Фаворит, Саратовская 73, Альбидум 32, Саратовская 74.

Среди сортов саратовской селекции яровой мягкой пшеницы выявлены особенности в развитии элементов продуктивности колоса: числу колосков - от 9,87 до 18,83 шт.; числу зерновок - от 15,32 до 38,8 шт.; по массе зерновок - от 23,0 до 39,0 мг. В ряду сортов от Полтавки к Саратовской 74 наблюдаются: незначительный тренд возрастания числа колосков и зерновок в колосе; отрицательный тренд - по числу зерновок в колоске; хорошо выраженный положительный тренд - возрастания массы зерновок.

В агроценотической популяции сортов саратовской селекции количество классов вариации по элементам продуктивности колоса (числа колосков и зерновок, их массы) составляет от 2 до 6. Доминирующими классами вариации являются: по числу колосков колоса - в хороший год 3-ий и 4-ый, в плохой - 2-ой и 3-ий классы; по числу зерновок - 2-ий и 3-ий классы, в отдельные годы составляя 94% от всех сортов; по массе зерновок - 3-ий и 4-ый классы, в отдельные годы - 2-ой и 3-ий классы вариации.

Большинству сортов яровой мягкой пшеницы саратовской селекции свойственна несбалансированность развития элементов продуктивности колоса – числа колосков и зерновок, массы зерновок. Только в отдельные годы вегетации растений сбалансированность развития элементов продуктивности колоса наблюдалась у сортов: Саррубра, Эритроспермум 841, Эритроспермум 82/02, Альбидум 43, Саратовская 29, Саратовская 42, Саратовская 56, Саратовская 58, Саратовская 62, Саратовская 64, Саратовская 68, Фаворит, ЮВ-2. Устойчивая сбалансированность развития элементов продуктивности колоса наблюдается только у 4-х сортов: Лютесценс 62, Саратовская 55, Саратовская 66 и Добрыня.

Более точным критерием морфогенетического потенциала и, соответственно, урожайности сорта по сравнению с предложенными ранее (коэффициент реализации колоса, оценка сбалансированности сорта, коэффициенты несогласованности морфогенеза), на наш взгляд, является морфогенетический индекс продуктивности (МИП). О существенной информативности данного показателя свидетельствует высокий коэффициент корреляции между МИП и урожайностью сорта ( $r = 0,98$ ). Нами предлагается следующая формула расчёта:  $МИП = (n_1 \times k_1 + n_2 \times k_2 + \dots + n_6 \times k_6) / n_1 + n_2 + \dots + n_6$ , где  $n$  - число растений соответствующего класса вариационного ряда;  $k$  - класс вариационного ряда.

Морфогенетический индекс продуктивности в отношении каждого из элементов продуктивности колоса среди сортов саратовской селекции составляет: по числу колосков колоса - от 2,23 до 5,13; числу зерновок колоса - от 1,63 до 4,33; по массе зерновок - от 2,1 до 4,17. В разные годы вегетации растений его величина может варьировать. Наблюдается положительный тренд морфогенетического индекса продуктивности по массе зерновок колоса.

Применение уравнения расчёта МИП по элементам продуктивности колоса позволило определить потенциальную урожайность сортов при благоприятных условиях вегетации. При максимальном значении МИП, равным 6, по числу и массе зерновок, потенциальная урожайность яровой мягкой пшеницы некоторых сортов саратовской селекции может достигать 7,5 т/га - Прохоровка, Саратовская 73. Высокой потенциальной урожайностью (более 6,2 т/га) обладают сорта: Эритроспермум 841, Эритроспермум 82/02, Саратовская 36, Саратовская 42, Саратовская 52, Саратовская 60, Саратовская 62, Саратовская 68, Саратовская 70, ЮВ - 4, Саратовская 72, Фаворит.

**Активность эндогенной  $\beta$ -GUS в генетически трансформированных корнях *Scutellaria baicalensis* Georgi в течение цикла культивирования****Степанова А.Ю., Соловьева А.И., Дикая В.С.**ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН. Ботаническая ул., 35, Москва, Россия  
[step\\_ann@mail.ru](mailto:step_ann@mail.ru)

Шлемник байкальский (*Scutellaria baicalensis*) – растение, широко используемое в традиционной китайской медицине. Экстракт из корней шлемника обладает широким спектром физиологического влияния на организм, начиная от противовоспалительного действия и заканчивая противоопухолевым. Вышеперечисленные свойства корней шлемника объясняются наличием в них четырех основных флавонов: вогонина, вогонозида, байкалина, байкалеина, среди которых выраженной физиологической активностью обладают флавоны-агликоны – байкалеин и вогонин. Известно, что шлемник байкальский содержит эндогенную  $\beta$ -глюкуронидазу (байкалиназу), которая, предположительно, участвует в гидролизе глюкуронидов с образованием флавонов-агликонов. Для изучения вклада данного фермента для получения физиологически активных флавонов, нами было проведено сравнительное исследование содержания флавонов и активности фермента в течение цикла культивирования генетически трансформированных корней (*hairy roots*) шлемника байкальского (штамм Sc.baic. из коллекции КГТКР ИФР РАН). Поскольку рядом авторов показана корреляция между активностью глюкуронидазы и ростом, нами одновременно проводилось исследование динамики роста *hairy roots* шлемника. Анализ кривых роста показал наличие короткой лаг-фазы, длительную фазу ускорения роста, экспоненциальную фазу с 28 по 42 день и длительную стационарную фазу роста. Фаза деградации начиналась после 63 суток культивирования. Оценка активности эндогенной  $\beta$ -глюкуронидазы в течение цикла культивирования *hairy roots* шлемника показала ее резкое увеличение в течение первых 7 дней, затем снижение в течение последующих 14 дней до первоначального уровня, на котором активность фермента сохранялась вплоть до стадии деградации. Следовательно, уровень активности эндогенной глюкуронидазы наиболее вероятно не связан с ростом культуры, а ее активность увеличивалась вследствие механического стресса, вызванного процедурой пересадки. Исследование соотношения основных групп флавонов показало преобладание флавонов-агликонов (байкалина и вогонина) (до 60% от общего содержания основных флавонов) в течение первых двух недель культивирования, затем это соотношение изменялось в сторону флавонов-глюкуронидов (байкалеина и вогонозида), содержание которых, в последующие дни культивирования, составляло 80-90% от общего содержания флавонов. Таким образом, экспериментально показано, что повышение активности эндогенной глюкуронидазы связано с увеличением содержания флавонов-агликонов.

## Особенности аккумуляции меди в растениях календулы

Стеценко Л.А.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН. Ботаническая ул., 35, Москва, Россия  
[larstet@mail.ru](mailto:larstet@mail.ru)

Высокая потребность фармацевтической промышленности в растительном сырье приводит к необходимости выращивания лекарственных растений на плантациях. Основным спрос приходится на такие виды лекарственного растительного сырья, как ромашка, шалфей и календула (Афанасьева П. В., 2014). С ухудшением экологической обстановки возникли несвойственные для природы концентрации металлов в почве и аккумуляция их в растениях. В связи с этим возрастает значение исследования способности растений аккумулировать ТМ и создания методов оценки чистоты лекарственного растительного сырья. Цель работы заключалась в изучении устойчивости *Calendula officinalis* L. к меди и определении содержания данного металла в различных органах растения в процессе онтогенеза.

Семена календулы сорта Кальта, полученные в ВИЛАРе (Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений), проращивали на увлажненной фильтровальной бумаге при температуре 24 - 25° С. Проростки переносили на водную среду Джонсона и выращивали в течение 3-х недель в камере фитотрона. Затем в среду одноразово внесли  $\text{CuSO}_4$  до конечных концентраций 0 (контроль), 50, 100, 200 и 300 мкМ Cu. Смену питательной среды проводили каждые 6-7 суток. В контрольных и опытных растениях были измерены физиологические параметры (биомасса, содержание воды и фотосинтетических пигментов в листьях). Содержание меди в образцах растительного материала измеряли на атомно-абсорбционном спектрофотометре Лабист-400 (Россия) после озоления смесью концентрированных азотной и хлорной кислот.

Выращивание календулы в течение 7 суток в присутствии 50-300 мкМ Cu приводило к снижению прироста биомассы, которое находилось в прямой зависимости от концентрации меди в среде. Наиболее сильно ингибировался прирост биомассы в верхушечных побегах. Через 7 суток опыта отношение надземной массы растений к массе корня в контрольных растениях равнялось 2, а при экспозиции в присутствии 50, 100, 200 и 300 мкМ Cu этот значение увеличилось до 3, 9, 12 и 38 соответственно. При концентрации меди в среде более 200 мкМ наблюдали появление некротических пятен на листьях нижних ярусов, однако и через 30 суток роста на среде с медью растения всех вариантов сохраняли жизнеспособность, что свидетельствует о высокой устойчивости календулы к меди. В контрольных и опытных растениях измеряли содержание воды в листьях 1-3 ярусов и в верхушечном побеге. Во всех вариантах оводненность листьев снижалась с повышением ярусности. Содержание фотосинтетических пигментов в листьях календулы достоверно снижалось относительно контроля при содержании меди в среде более 200 мкМ.

Выявлена неравномерность накопления и распределения ионов меди в надземных органах *Calendula officinalis* L. Исследование аккумуляции меди в листьях 1-3 ярусов и в верхушечном побеге показало, что наибольшая концентрация меди наблюдалась в листьях 2 и 3 ярусов во всех вариантах опыта. Например, при концентрации меди в среде 300 мкМ за 7 суток экспозиции содержание Cu в листьях 1, 2, 3 ярусов и в верхушечных листьях составило в среднем 89, 112, 125 и 29 мкг/г сухой массы соответственно. Для оценки содержания меди в корнях корневую систему растений предварительно промывали по стандартной методике для удаления сорбированных на поверхности ионов металлов. Содержание меди в корнях на 7 сутки эксперимента составило в среднем 100, 124, 216 и 280 мкг Cu /г сухой массы для вариантов 50, 100, 200, 300 мкМ Cu соответственно, что значительно превышало содержание меди в листьях.

В конце 3 недели от начала эксперимента появились бутоны и соцветия в контрольных растениях и в растениях, которые выращивали на среде 50 мкМ меди, а на 25-30 сутки зацвели растения остальных вариантов опыта. На 30 сутки эксперимента содержание меди в цветочных корзинках контрольных растений составляло

5 - 7 мкг Cu /г сухой массы, в растениях, которые выращивали на среде 50 мкМ Cu и 100 мкМ Cu в среднем 12 и 15 мкг Cu /г сухой массы соответственно. Содержание меди в цветках значительно не изменялось при увеличении концентрации меди в питательном растворе до 200 мкМ. При концентрации меди в среде до 300 мкМ было отмечено повышение содержания меди в бутонах и цветках, что превышало в 4 - 5 раз содержание контрольных растений. ПДК меди для цветков календулы составляет 20 мг/кг сухого сырья (Ю.В. Алексеев, 1987). Было показано, что содержание меди в цветках календулы при выращивании растений на среде, содержащей до 100 мкМ Cu, находилось в пределах ПДК.

Таким образом, результаты данного исследования показали возможность выращивания растений *Calendula officinalis* L. в условиях водной культуры и использования их как модельных растений при исследовании действия тяжелых металлов. Точные дозировки солей меди в среде выращивания позволили оценить уровень накопления меди в различных органах растений календулы. Было показано, что растения календулы довольно устойчивы к действию солей меди. Показано, что аккумуляция меди в корнях выше, чем в надземной части растения. Отмечено различие в содержании меди в листьях *Calendula officinalis* L. Наиболее высокий уровень аккумуляции меди был обнаружен в средних ярусах листьев; содержание меди снижалось к верхушке побега и наиболее заметное ее снижение наблюдалось в соцветиях календулы.

## Участие фоторецепторов в росте *Arabidopsis* в условиях солевого стресса *in vitro*

Стриж И.Г.

Кафедра физиологии растений биологического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, 119234, Ленинские горы д.1, кор.12, Москва, Россия  
[irina.strizh@mail.ru](mailto:irina.strizh@mail.ru)

Исследование механизмов роста, в частности корня, является одной из ключевых задач биологии растений на протяжении многих десятилетий не только с фундаментальной точки зрения, но и исходя из прикладных аспектов, например, с целью повышения продуктивности и устойчивости растений. Корень является не просто традиционным модельным объектом для биологов, но и первым органом растений, который испытывает на себе все неблагоприятные факторы окружающей среды. В последние годы основные достижения в этой области получены с использованием модельного растения *Arabidopsis*. Общепринятым и традиционным экспериментальным методом является выращивание арабидопсис в чашках Петри при полном освещении и корней, и побегов. Практически все современные данные по биологии роста, развития и устойчивости растений, изложенные в высокорейтинговых научных журналах и представленные в учебниках различных авторов и издательств, получены с использованием мутантов или трансгенных растений *Arabidopsis in vitro*. Сторонники классической биологии растений в различных странах мира склонны скептически относиться к идее о влиянии света на рост корня аргументируя к тому, что корень большинства растений должен расти в темноте и к известному явлению агелиотропизма корней большинства растений. В последние несколько лет, можно сказать, было сформулировано устойчивое мнение, что свет является стрессовым фактором для роста корней. Именно в таком ключе было исследовано ранее в лаборатории Франтишека Балушки явление галотропизма корней *Arabidopsis*, выращиваемого в условиях полного освещения и в темноте. Идея о совместном влиянии двух или более стрессовых факторов на рост растения является традиционной, однако установить конкретные молекулярные механизмы или ключевые молекулы, принимающие участие в регуляции устойчивости растений при совокупном действии нескольких стрессовых факторов остается предметом дальнейших исследований.

Хорошо известно, что абиотические стрессы могут вызывать ускорение роста отдельных органов растения, чтобы избежать проблемы, либо, наоборот, результатом стресса является торможение роста корня в частности. Солевой стресс вызывает торможение роста гликофитов. Однако сопоставление длины и скорости роста корня *Arabidopsis* в темноте и на свету позволяет говорить, что свет способствует росту корней. Объяснить данное явление дистанционным влиянием активного метаболизма, в частности фотосинтезом, в побегах в условиях освещения исследователям не удалось. Идея настоящей работы состояла в том, чтобы сопоставить участие этих двух абиотических факторов - света и NaCl при выращивании *Arabidopsis in vitro*.

В качестве объекта данного исследования использовали растения *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., экотипа Columbia дикого типа и мутанты по основным фоторецепторам растений: *phya*, *phyb*, *phot1*, *phot2*, *cry1*, *cry2* выращиваемые в чашках Петри на среде MS/2, 0,8 % агар, pH 5.7, при 16 часовом фотопериоде (70 мкЕ/м<sup>2</sup>с).

Был измерен первичный рост корней, а также сопоставлены скорость прорастания и время выживания растений, постоянно растущих на средах, содержащих 0, 50, 100 или 150 mM NaCl. Более заметные различия между диким типом и мутантами были обнаружены при длительном (7-30 дней) выращивании растений арабидопсис в присутствии 150 mM NaCl в среде. Мутанты по фоторецепторам синего света стандартно отличались хорошей всхожестью, скоростью роста первичного корня и длительностью выживания, тогда как фенотип мутантов по фитохрому имел принципиально иной характер при выращивании в условиях высокого засоления. Следует отметить, что на фоне солевого стресса наглядно прослеживался антагонизм действия фитохрома a и b, а также различный эффект фототропина 1 и фототропина 2, различающихся по чувствительности к интенсивности светового потока и, возможно, по механизму трансдукции сигнала.

В результате проведенных наблюдений, можно заключить, что фоторецепторы не только участвуют в росте первичных корней и прорастании *Arabidopsis* под действием солевого стресса, но также могут влиять на солеустойчивость взрослых растений. Исходя из положительной тенденции к солеустойчивости у мутантов по фототропинам и криптохромам, можно говорить, что свет, действительно, является стрессовым фактором для роста растений в условиях засоления. Вместе с тем, следует отметить, что свет является и сигнальным фактором, способствующим избеганию солевого стресса, что наглядно видно по угнетению прорастания и роста первичного корня мутантов по фитохрому. Определяющим фактором солеустойчивости растений, по-видимому, является спектральный состав и интенсивность света, рецептируемого как побегом, так и корнем.

## Эффекты сокультивирования ягодных растений семейства *Ericaceae* с грибами

Стручкова И.В., Березина Е.В., Брилкина А.А.

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, пр. Гагарина, 23, Нижний Новгород, Россия  
[struchkova65@inbox.ru](mailto:struchkova65@inbox.ru)

Ягодные растения сем. *Ericaceae* Juss. – клюква (р. *Oxycoccus* Hill) и другие – обладают ценными пищевыми и лекарственными свойствами. Эти культуры можно эффективно использовать для восстановления нарушенных местообитаний (выработанные торфяники, горельники) и получать востребованную населением и пищевой промышленностью продукцию с площадей, не подходящих для большинства сельскохозяйственных культур. Микроразмножение этих ягодных растений способно обеспечить быстрое получение большого количества качественного посадочного материала. Для повышения приживаемости и ускорения развития микрорастений клюквы крупноплодной *O. macrocarpus* (Ait.) Pers. на этапе адаптации к почвенному субстрату мы использовали сокультивирование с микроскопическими грибами: аскомицетами *Phialocephala fortinii* (Wang, Wilcox) и *Trichoderma virens* (Miller, Giddens et Foster).

Изоляты темного септированного эндофита *P. fortinii* были выделены нами из корней растений клюквы болотной (*Oxycoccus palustris* Pers.) и голубики топяной (*Vaccinium uliginosum* L.), собранных в природных ягодниках Нижегородской области. Их видовая принадлежность доказана с помощью ПЦР-анализа. Способность мицелия названного гриба проникать внутрь клеток корня клюквы крупноплодной выявлена с помощью окраски грибных гиф трипановым синим и обратным выделением из инфицированных корней. Изображения локализации гиф получали с помощью конфокального лазерного сканирующего микроскопа LSM 710 (Zeiss, Германия). Микромицет *T. virens* (штамм ВКМ F-1117), являющийся типичным почвенным сапротрофом, был получен из Всероссийской коллекции микроорганизмов. Для этого гриба способность проникать внутрь клеток корня не отмечена. Грибы культивировали на агаризованной среде Чапека-Докса (ППС) при температуре 22±3°C до плотного покрытия мицелием всей площади чашки Петри (длительность культивирования составляла 3 месяца – для *P. fortinii*, 5 дней – для *T. virens*).

Микрорастения клюквы крупноплодной размножали на питательной среде Андерсона в течение двух месяцев; за это время растения достигали высоты 8-10 см и формировали разветвленную корневую систему. Для создания условий сокультивирования при посадке микрорастений клюквы в стерилизованный торф вносили фрагменты мицелия в виде пробок агаризованной среды размером 5x5 мм. Сокультивирование осуществляли при освещении светодиодным источником с преобладанием лучей красного диапазона и при фотопериоде 16/8 часов (день/ночь соответственно).

Установлено, что сокультивирование ускоряет наращивание растениями биомассы, причем воздействие наиболее выражено для корней. Инфицирование микрорастений изолятом гриба *P. fortinii* повышало процент их приживаемости, особенно в условиях кратковременной засухи: если в контроле этот показатель никогда не превышал 86%, то в условиях сокультивирования достигал 90-100%. Также выявлено улучшение фосфорного питания растений. В присутствии грибов (чаще – *P. fortinii*) наблюдалась более интенсивная убыль фосфора из почвы и возрастание в полтора – два раза (после 10 месяцев сокультивирования) его накопления в растениях. При сокультивировании клюквы с грибом *P. fortinii* увеличение содержания фосфора происходило как в корнях, так и в листьях. Максимальное усиление накопления фосфора – двукратное по отношению к контролю – отмечено для корней. В случае с *T. virens* уровень фосфора повышался только в корнях.

Таким образом, в условиях сокультивирования с растениями клюквы крупноплодной, полученными методом микроразмножения, грибы *P. fortinii* и *T. virens* оказывают положительное воздействие на рост и приживаемость микрорастений. Эффект связан с усилением фосфорного питания. Применение положительного воздействия грибов на ягодные растения сем. *Ericaceae* на стадии *ex vitro* позволяет ускорить получение посадочного материала этих востребованных потребителем ягодных культур.

## Сравнительный анализ камбиальной деятельности и фотосинтетической активности сосны, ели и лиственницы

*Суворова Г.Г., Осколков В.А., Стасова В.В.\*, Антонова Г.Ф.\**

Сибирский институт физиологии и биохимии растений. Лермонтова ул. 132, Иркутск, Россия

\*Институт леса им. В.Н.Сукачева СО РАН. Академгородок 50/28, Красноярск, Россия

[galina.g.suvor@gmail.com](mailto:galina.g.suvor@gmail.com), [vistasova@mail.ru](mailto:vistasova@mail.ru)

Сравнительное изучение фотосинтетической активности крон и камбиальной активности стволов у трех видов хвойных - сосны обыкновенной, ели сибирской и лиственницы Гмелина проводили в течение 2013 г. Камбиальную деятельность оценивали по количеству клеток, произведенных камбием за двухнедельный период. Поглощение двуокси углерода регистрировали в те же периоды с апреля по октябрь на растущих рядом деревьях, аналогичных по темпам роста тем, с которых брали керны. Отсутствие промерзания почвенной толщи в зимний период и последующее активное прогревание верхних слоев почвы и повышение температуры воздуха к концу апреля обусловили ранее начало вегетации и быстрое возрастание уровня фотосинтетической активности крон у сосны и ели. Начало фотосинтетической активности в лиственнице, обусловленное ростом хвои, отмечено в первой половине мая. Выход камбия из покоя в стволах деревьев наблюдался в конце апреля у сосны, тогда как у лиственницы и ели - в начале мая. В это время камбиальные клетки увеличивались в радиальном направлении, и цитоплазма становилась менее плотной. Число клеток проводящей флоэмы в стволах возрастало с началом фотосинтетической активности кроны. Развитие нового годичного прироста начиналось с развития перезимовавших незрелых флоэмных производных камбия. Деления клеток в зоне камбия как в сторону ксилемы, так и флоэмы наблюдались в первой половине мая у сосны и во второй — у лиственницы и ели. Наибольший прирост как ксилемных, так и флоэмных клеток был зафиксирован у сосны и лиственницы во второй половине июня. При этом количество клеток, произведенных камбием в сторону ксилемы и флоэмы в стволах лиственницы, превышало эти показатели у сосны. В стволах ели активность камбия в это период была значительно ниже, чем в других породах. Именно в этот период при достаточном запасе почвенной влаги наблюдалась оптимальная для активности камбия температура воздуха. Второй пик производства клеток ксилемы у всех трех пород отмечался во второй половине июля в результате понижения температуры воздуха (ниже 25 градусов) и выпадению осадков. Пик активности продукции камбием клеток флоэмы отмечали в этот период только в стволах ели. У сосны увеличение прироста флоэмных клеток фиксировали в начале августа, тогда как у лиственницы - в середине месяца. Реакция Фотосинтетического аппарата трех видов хвойных в отдельные периоды сезона была различна и зависела от сочетания внешних и внутренних факторов. Дневная продуктивность фотосинтеза сосны в отдельные периоды сезона коррелировала с суммарной за день освещенностью, среднедневной температурой воздуха и температурой почвы ( $R^2=0.52-0.61$ ) и слабо зависела от запаса почвенной влаги ( $R^2=0.24$ ). Фотосинтетическая продуктивность лиственницы Гмелина в первой половине вегетации показывала слабую зависимость от температуры воздуха и почвы ( $R^2=0.22-0.35$ ), в последующем – зависимость от освещенности, запаса влаги и температуры почвы ( $R^2=0.46-0.50$ ). У ели сибирской была выявлена слабая связь с освещенностью и запасом влаги ( $R^2=0.21-0.31$ ) и отрицательная зависимость от температуры почвы на глубине 5 см ( $R^2=0.57$ ), что, очевидно, было связано с отрицательной реакцией на ее сопутствующее иссушение. Образование камбием ксилемных производных у деревьев всех трех пород заканчивалось во второй половине августа. Развитие флоэмы продолжалось до середины сентября, прекращаясь раньше всего у лиственницы и затем у сосны и ели. В течение периода вегетации наибольшие значения продуктивности фотосинтеза отмечены у лиственницы, наименьшие — у ели. По-видимому, с этим связано различие в количестве клеток, образованных камбием за сезон. Наибольшее количество клеток ксилемы и флоэмы отмечали у лиственницы, наименьшее у ели. С другой стороны, различие в инициации активности камбия и его производительности в трех видах хвойных обусловлены эндогенными факторами.

## Физиолого-биохимические изменения у отличающихся по устойчивости сортов винограда при заражении милдью

Сундырева М.А., Ушакова Я.В.

ФГБУН Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства  
[taurim2012@yandex.ru](mailto:taurim2012@yandex.ru)

Значительный ущерб отрасли виноградарства наносят болезни, вызываемые грибными фитопатогенами. Для культуры винограда среди возделываемых сортов, относящихся к виду *Vitis vinifera* L. либо к его межвидовым гибридам, отсутствуют иммунные к распространенным грибным болезням этой культуры генотипы. Выявление сущности преобладающих физиологических закономерностей формирования резистентности растений к стрессорам является основной ступенью в управлении количественными и качественными показателями производства, что имеет первостепенное значение для повышения конкурентоспособности российского виноградарства. Задача исследования – выявление закономерностей иммунного ответа растений винограда с различной восприимчивостью к грибным патогенам при заражении. Объектами исследования являлись растения двух сортов винограда: Восторг и Мускат белый, контрастные по устойчивости к милдью. Поражаемость милдью (*Plasmopara viticola* Berl. et Toni) сорта Восторг составляет 1 балл, а сорта Мускат белый – 4 балла. У чувствительного сорта Мускат белый спороношение на нижней стороне листа и характерные для милдью маслянистые пятна появлялись через 72 часа после инокуляции. У устойчивого сорта Восторг признаки заболевания отсутствовали. Для выявления показателей, характеризующих отличия зараженных и контрольных растений, рассчитывали коэффициент корреляции. Низкий коэффициент корреляции показывал, что связи между вариантами нет, следовательно, отличия максимальны. У обоих изучаемых сортов наблюдается спад уровня МДА, как маркера развития окислительного стресса, относительно контрольных растений через 48 часов после заражения, с последующим выраженным повышением через 72 часа у сорта Восторг и 96 часов у сорта Мускат белый. Зараженные растения сорта Восторг в целом характеризуются более низкими значениями МДА в листьях, чем растения сорта Мускат белый. Следует отметить, что после увеличения через 72 часа после инокуляции содержание МДА в листьях сорта Восторг остается примерно на одном уровне, а у сорта Мускат белый увеличивается в течение всего анализируемого периода. Содержания кальция, как вторичного мессенджера стрессовых сигналов, также может характеризовать развитие стресса у винограда. Содержание кальция в листьях чувствительного сорта Мускат белый выше, чем в листьях сорта Восторг. У двух изучаемых сортов винограда выявлено сходное содержание аскорбата как в контрольных, так и в зараженных растениях, однако активность пероксидазы и появление различных изоформ этого фермента может свидетельствовать о наибольшем его значении в координации уровня окисленности и, соответственно, первичных реакций на воздействие со стороны патогена. Наибольшие отличия между сортами проявляются в содержании кумаровой, дегидробензойной, кофейной и хлорогеновой кислот. В целом в листьях устойчивого сорта Восторг содержалось меньше фенольных соединений, чем в листьях сорта Мускат белый, что может свидетельствовать о неспецифическом адаптивном ответе этого сорта на развитие патогена. В наших исследованиях увеличение содержания ресвератрола, специфического фитоалексина винограда, происходило параллельно у устойчивого и чувствительного сортов, при этом на листьях чувствительного сорта активно развивались признаки заболевания, а листья устойчивого сорта были не повреждены. Единственной разницей в этот период у двух сортов было значительное понижение активности пероксидазы в листьях Муската белого, что, вероятно, приводило к описанному ранее гликозилированию ресвератрола и переводу его в нетоксичное состояние в отсутствие пероксидазной активности. В динамике первичных метаболитов наибольшие отличия отмечаются в содержании глицина, тирозина, метионина, серина. Содержание глицина, входящего в состав структурных белков, укрепляющих клеточную стенку, возрастает у неустойчивого сорта Мускат белый через 48 часов после заражения, тогда как у устойчивого сорта это происходит только через 120 часов. Содержание тирозина – одного из начальных звеньев фенилпропаноидного пути – возрастает у обоих сортов через 8 часов после заражения. Второе увеличение содержания тирозина в листьях сорта Восторг отмечается через 72 часа, а у сорта Мускат белый – 96 часов после заражения. Метионин, как предшественник этилена, является важным звеном сигнальных каскадов. У сорта Восторг содержание метионина возрастает через 8 часов после заражения, а у сорта Мускат белый только через 120 часов. Интересно, что и по содержанию серина, участвующего в передаче стрессового сигнала, выделяются два пика у сорта Восторг раньше, чем у Муската белого. Таким образом, можно предположить, что устойчивый сорт Восторг раньше и более интенсивно воспринимает воздействие патогена. У чувствительного сорта происходит выраженный конститутивный ответ на воздействие биотического стресса, но замедлены пути дальнейшего преобразования образовавшихся метаболитов в эффективные против воздействия патогена вещества. Неустойчивые генотипы реагируют на воздействие стресс-фактора значительным увеличением содержания фенольных соединений, но не их дальнейшим преобразованием. В противоположность этому в тканях устойчивых генотипов ведущую роль может играть согласованность процессов синтеза фенольных соединений и их скорейшая метаболизация за счет быстрой активации регуляторных процессов и быстрое образование микотоксичных или укрепляющих клеточную стенку веществ, что позволяет эффективно противостоять патогену. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-34-60154 мол-а-дк

## Анализ связи вызванных переменным потенциалом изменений транспирации с устойчивостью фотосистем к повышенной температуре

Сурова Л.М., Шерстнева О.Н., Горбачев Д.П., Корчёмкина А.В., Сухов В.С.

Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского. пр-т Гагарина, 23, Нижний Новгород, Россия  
[lyubovsurova@mail.ru](mailto:lyubovsurova@mail.ru)

Электрические сигналы (ЭС) играют важную роль в формировании быстрых системных ответов растения на изменения окружающей среды. Известно, что ЭС влияют на многие физиологические функции растительного организма, в том числе на фотосинтез и транспирацию, однако, остаётся невыясненной конечная роль вызванных электрическими сигналами функциональных ответов у растений. Существует предположение, что сигнал-индуцированные функциональные изменения способствуют повышению устойчивости растений к стрессовым воздействиям. Изменения транспирации, вызванные сигналом, могут играть существенную роль в адаптации растения к меняющимся условиям окружающей среды, т.к. регуляция потери воды растением в условиях жары или засухи будет решающим фактором, для его выживания.

Эксперименты проводили на двух-, трёхнедельных растениях гороха посевного (*Pisum sativum* L.), выращенных в климатической камере KBW-240 гидропонным способом при 16-часовом световом дне и температуре 24°C. Регистрацию электрических сигналов осуществляли с использованием хлорсеребряных макроэлектродов и милливольтметра ИПЛ-113. В качестве раздражающего воздействия был использован ожог в течение 2 с. Анализ параметров фотосинтеза и локальный прогрев листа осуществляли с помощью РАМ-флуориметра Dual-РАМ-100 и инфракрасного газоанализатора GFS-3000.

Было показано, что ожог листа вызывал индукцию электрического сигнала в виде переменного потенциала (ВП). В исследуемой зоне на неповреждённом листе возникали изменения активности транспирации и фотосинтетических параметров.

Было исследовано влияние ВП на устойчивость фотосинтетического аппарата к высокой температуре. Результаты анализа влияния сигнала на устойчивость фотосистем I и II (ФС I и ФС II) при нагревании листьев до различных температур показали, положительное влияние ВП на устойчивость ФС I к нагреванию при температуре 45–47°C или более. Индукция ВП перед нагревом увеличивало конечный квантовый выход ФС I и долю неповрежденной ФС I, что показывало положительное влияние ВП на устойчивость ФС I. В то же время доля неповрежденной ФС II существенно не отличалась от контрольных растений. Известно, что ФС I более устойчива к стрессовым факторам, чем ФС II, однако ФС I практически не способна к репарации. Можно предположить, что защита ФС II, возможно, недостижима при высоких внешних температурах, однако повышение устойчивости ФС I может играть важную роль в увеличении общей устойчивости растения, в частности, способствовать поддержанию циклического потока электронов и сохранению синтеза АТФ.

Принимая во внимание влияние ВП на транспирацию, можно предположить, что сигнал может изменить температуру листа при нагревании и модифицировать повреждение ФС II. Влияние ВП на нагревание листа при одинаковой внешней температуре показало, что средняя температура листа после распространения ВП была достоверно выше, чем в контроле. Эти различия в температуре листа сопровождалось различными измерениями транспирации у экспериментальных и контрольных растений. Растущая внешняя температура существенно стимулировала транспирацию контрольных растений, а ВП подавлял это возрастание. Вызванные нагреванием изменения температуры листа и транспирации хорошо коррелируют между собой, что подтверждает ключевую роль транспирации для различных вариантов нагрева листьев экспериментальных и контрольных растений при одинаковой внешней температуре. Коэффициенты корреляции между температурами и остаточными значениями параметров фотосинтетического аппарата были низкими для ФС I, а для параметров ФС II после прогрева были достоверными и значительными.

Для детальной оценки изменений транспирации при локальном раздражении в условиях высокотемпературного воздействия было проведено сравнение экспериментальных и теоретических данных, полученных на основании математической модели. Оценка влияния повышения температуры на транспирацию в условиях отсутствия стрессового сигнала и при его наличии показала, что без ВП происходит активное повышение транспирации связанное, по-видимому, с открытием устьиц. При предварительном распространении стрессового сигнала в исследуемый лист активный ответ устьиц не наблюдается, происходит снижение потери воды листом растения. Таким образом, основным механизмом увеличения повреждения ФС II высокой температурой, которое наблюдается при предварительной индукции ВП, является подавление активации транспирации при нагреве. Такое уменьшение итоговой транспирации, отражающее, вызванное ВП закрытие устьиц, приводит к более сильному нагреву листа при той же внешней температуре, что является причиной усиления повреждения ФС II, что, возможно, играет защитную роль, снижая вероятность повреждения ФС I активными формами кислорода, возникающими за счет потока электронов с ФС II. Итоговым результатом вызванных ВП изменений устойчивости фотосинтетического аппарата является, по-видимому, увеличение общей устойчивости растения к повышенной температуре. Таким образом, можно полагать, что распространение ВП является важным механизмом адаптации растения к изменениям условий среды. Работа поддержана грантами РФФИ № 16-34-00972 мол\_a и Минобрнауки РФ № 6.3199.2017/ПЧ



## **Эффект ускорения роста растяжением в сегментах корней кукурузы при повышении внешнего давления**

*Суслов М.А.*

ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН, ул. Лобачевского 2/31,  
Казань, Россия  
[makscom87@mail.ru](mailto:makscom87@mail.ru)

По современным представлениям давление является важным фактором, необходимым для регуляции роста и развития растений. Изменения давления в клетках и тканях растений, вызванные, например, осмотическим или механическим стрессом, могут являться первичным сигналом в ответной реакции растений на внешнее воздействие. В плазмалемме клеток обнаружены механочувствительные каналы, реагирующие на изменение внешнего давления. В настоящее время активно обсуждается роль тургорного давления и корреляция его изменений со скоростью роста клеток растяжением. При этом, по мнению некоторых авторов, значительную роль в росте клеток растяжением играет и давление в апопластной системе, которое часто отличается от атмосферного. Пониженное давление обусловлено действием транспирации, а повышенное давление наблюдается в весеннее время, когда почва хорошо гидратирована. В связи с этим, наряду с тургорным давлением, возникает потребность учитывать параметр апопластного давления в математических моделях роста клеток растяжением. В свою очередь модели роста нуждаются в проверке и обосновании биологическими экспериментами.

В настоящей работе показан и исследован эффект увеличения скорости роста отсечённых сегментов корней кукурузы, содержащих зону растяжения, при повышении внешнего давления до 1 МПа с шагом в 0.25 МПа. Скорость роста сегментов измеряли непосредственно под действием давления с помощью оригинальной камеры давления. Прирост регистрировали в течение 6 часов после отсечения. Максимальный прирост сегментов под давлением за это время составлял в среднем 9-12% от первоначальной длины, равной 18-20 мм. Таким образом, при повышении внешнего давления наблюдали увеличение скорости роста сегментов, при этом наибольшая скорость роста зафиксирована под давлением 0.5-1 МПа. При этих значениях давления скорость роста была в 2 - 2,5 раза выше скорости роста контрольных сегментов (при атмосферном давлении). Показано, что давление до 1 МПа не приводит к механической деформации сегментов и отдельных клеток. При этом предварительная обработка сегментов корней раствором хлорида ртути в концентрации 200 мкМ или уменьшение концентрации кислорода во внешней среде, путём замены кислорода на азот, резко снижает эффект давления. Учитывая эти данные, а также временные параметры прироста, можно предположить, что наблюдаемый эффект ускорения роста под давлением связан с физиологическим ростом растяжением. Предполагается, что ускорение роста сегментов под давлением связано с компенсацией потерянного давления в апопласте корня, вызванного отсечением. По литературным данным, основанным на результатах математического моделирования, повышение давления в апопластной системе должно приводить к резкому увеличению тургорного давления в клетках и ускорению роста клеток растяжением. Таким образом, приведённые в данной работе экспериментальные данные коррелируют с литературными данными математического моделирования и укрепляют современные представления об участии фактора давления в регуляции роста клеток растений.

Работа поддержана грантом РФФИ №16-34-00823.

## Эколого-ценотическая и биохимическая характеристика ресурсных видов *Comarum palustre* и *Menyanthes trifoliata* в условиях Республики Коми

Табаленкова Г.Н., Захожий И.Г., Маслова С.П.

ФГБУН Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН. Коммунистическая 28,  
Сыктывкар, Россия  
[tabalenkova@ib.komisc.ru](mailto:tabalenkova@ib.komisc.ru)

Торфяные болота в Республике Коми (РК) занимают около 10% всей её площади. Значительная часть болот сосредоточена в средней тайге, где распространены обширные болотные системы, различающиеся по площади, условиям водно-минерального питания и флористическому составу. Флора сосудистых растений болот включает около 100 видов, многие из которых имеют пищевую или лекарственную ценность. Одними из самых распространенных лекарственных растений болот являются *Comarum palustre* L. и *Menyanthes trifoliata* L. Вахта трехлистная и сабельник болотный в изобилии растут вдоль берегов стоячих и слабопроточных водоемов, по топким окраинам зарастающих озер, стариц, на низовых травяно-осоковых и гипново-травяных болотах и по болотистым лугам. Растения образуют чистые заросли или совместные сообщества. Биологический запас сырья *C. palustre* и *M. trifoliata* не определен, но несомненно, что размеры весьма велики, поскольку растения встречаются на значительных площадях болот по всей территории РК. Оба вида применяются в народной и официальной медицине, включены в фармакопею.

Фармакологические свойства препаратов *M. trifoliata* обеспечивают горькие иридоидные гликозиды: логанин, сверозид, логанетин, фолиаментин и др. Листья растений также содержат флавоноидные гликозиды (рутин, гиперозид, трифолин), алкалоид генцианин, дубильные вещества. Препараты из *M. trifoliata* усиливают секрецию желез желудочно-кишечного тракта, входят в состав усиливающих аппетит, желчегонных, слабительных, мочегонных и седативных сборов. К веществам, обуславливающим фармакологические свойства *C. palustre* относят флавоноиды, проантоцианидины, фенолкарбоновые кислоты, дубильные вещества и полисахариды. Препараты из *C. palustre* активно используются в народной медицине как противовоспалительное, кровоостанавливающее, иммуностимулирующее, антиревматоидное средство. Сведения о структурных составляющих, продуктивности ценопопуляций и содержании в растениях биологически активных веществ на Севере малочисленны.

Результаты исследований свидетельствуют о высокой продуктивности растений *M. trifoliata* за счет интенсивного вегетативного размножения, обусловленного формированием плагиотропных побегов – резид, составляющих половину всей биомассы растений. К фазе цветения в условиях низового хвощово-вахтovo-осокового болота среднетаежной зоны РК растения накапливали более 300 г сухой массы/м<sup>2</sup>, 45 % которой приходилось на плагиотропные побеги. Листья растений характеризовались интенсивным дыханием (2.5 мг СО<sub>2</sub>/г сухой массы ч), сравнительно высоким содержанием азота (3.5 % сухой массы). В тканях надземных побегов и резид идентифицировано шесть сахаров (рамноза, фруктоза, глюкоза, сахароза, мальтоза и раффиноза), содержание которых составляло 10-15 % в пересчете на сухую массу. Содержание флавоноидов в органах растений варьировало от 0.9 % в корневищах до 3.6 % в листьях. Надземные органы превосходили корневища и по суммарному содержанию фенольных соединений (до 4.3 % в листьях). По содержанию иридоидов органы растений располагались в следующий ряд: корневища (2.9 %) > листья (2.1%) > соцветия и черешки листьев (около 0.8 % в пересчете на сухую массу). Элементный состав органов растений характеризовался высоким содержанием железа и марганца, что связано с повышенным содержанием подвижных форм данных элементов в корнеобитаемом слое болотной почвы.

В подзоне средней тайги на олиготрофном болоте растения *C. palustre* формировали до 124 г сухой фитомассы/м<sup>2</sup>. На долю корневищ приходится 60 – 70 % всей биомассы. Листья растений характеризовались интенсивным фотосинтезом (10 мкмоль СО<sub>2</sub>/м<sup>2</sup> с) и высоким содержанием азота (3.0 % в сухой массе). Большая часть общего азота листьев и корневищ *C. palustrte* представлена азотом аминокислот белковой фракции. В общем пуле углеводов надземной части (124 мг/г) и подземной части (30 мг/г сухой массы) *C. palustre* преобладает глюкоза и фруктоза. В надземной и подземной части растений обнаружен крахмал. Высокая интенсивность фотосинтеза приводит к тому, что часть моносахаров полимеризуются и откладываются в надземных побегах и корневищах в виде крахмала. Основными биологически активными веществами *C. palustre* считаются мономерные и полимерные соединения фенольной природы. Величина общего пула растворимых фенольных соединений составляет 92 мг/г в надземных и 112 мг/г сухой фитомассы в подземных органах. Содержание флавоноидов в надземной массе растений составляло 18 мг/г, а в корневищах 1.6 мг/г сухой массы. Проведенные исследования показали, что экстракты *C. palustre* обладают выраженным антирадикальным действием по отношению к 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилу. Антирадикальная активность экстрактов линейно коррелирует с содержанием фенольных веществ.

Таким образом, в условиях средней тайги *C. palustre* и *M. trifoliata* по содержанию биологически-активных веществ не уступают растениям из других географических зон и являются перспективными ресурсными видами. Полученные данные могут быть использованы при оценке запасов этих видов и планировании мероприятий по рациональному использованию растительных ресурсов на территории Республики Коми.

## Дегидрины в годичном цикле *Pinus sylvestris* L. в экстремально-климатических условиях криолитозоны

Татаринова Т.Д., Перк А.А., Васильева И.В., Пономарев А.Г., Бубякина В.В.

Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН. Ленина пр., 41, Якутск, Россия  
[t.tatarinova@gmail.com](mailto:t.tatarinova@gmail.com)

Экстремально низкие температуры и многолетняя мерзлота относятся к основным абиотическим факторам, определяющим жизнедеятельность и видовой состав растений в природно-климатических условиях Центральной Якутии. Сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.) – главная лесообразующая хвойная порода на Северо-Востоке Сибири, обладает большим потенциалом морозоустойчивости. Одной из адаптивных реакций в формировании устойчивости древесных растений к низким температурам является экспрессия стрессовых белков. Среди стресс-белков идентифицированы дегидрины, особенности структуры и наличие специфических Y-, S- и K-последовательностей которых определяют их свойства и функции. Вероятно, что дегидрины участвуют в защите клеточных структур от повреждений, вызванных холодовым воздействием в условиях обезвоживания.

Целью работы явилось изучение состава и сезонных изменений дегидринов в годичном цикле сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.), произрастающей в экстремально-климатических условиях криолитозоны.

Сбор образцов сосны (хвоя, почки) проводили в 2009-2014 гг. в лесных массивах (окрестности г. Якутска, 62° с.ш., 129° в.д.). Климатические условия в годы отбора проб были близки к многолетним значениям. Выделение суммарных белков, аналитический электрофорез в 13,5 % ПААГ и блоттинг белков на ПВДФ-мембрану («Bio-Rad», США) осуществляли согласно принятым методикам. Идентификацию дегидринов выполняли с использованием поликлональных антител против их консервативного K-сегмента («Agrisera», Швеция).

В работе изучены стрессовые белки-дегидрины и изменения их состава в годичном цикле роста и развития в хвое и почках *P. sylvestris*. Эти органы сосны наиболее подвержены воздействию сверхнизких зимних температур в условиях криолитозоны. Выраженный полиморфизм мажорных дегидринов (14-15 и 66 кДа) в хвое отдельных экземпляров сосны во время покоя не обнаружен, а незначительные различия между ними носили количественный характер. Также выявлено сходство состава дегидринов между одно- и двухлетней хвоей. Верхушечные почки сосны, по сравнению с хвоей, оказались более разнообразны по составу и количеству дегидринов. Так, мажорные дегидрины в почках, как и в хвое, представлены белками с мол. м. 14-15, 66 кДа, меньшим содержанием отличались дегидрины 26, 41, 48, 55 кДа. Анализ сезонных изменений показывал, что в годичном цикле сосны 66 кДа дегидрин представлен в хвое во все сезоны с некоторым уменьшением в летние месяцы. Наиболее подвержены сезонным вариациям низкомолекулярные, в основном, 15 кДа, дегидрины. Так, в хвое уровень 15 кДа дегидрина резко уменьшался весной (май). Он полностью исчезал во время вегетации и вновь появлялся в начале осени (сентябрь). Накопление 15 кДа дегидрина в хвое в осенний период коррелировало с уменьшением содержания воды в хвое, что, вероятно, инициировалось сокращением фотопериода и понижением температуры воздуха при переходе растений к покою. Его содержание заметно возрастало в конце фенологической осени и сохранялось в течение всего низкотемпературного зимнего периода. Интересным представлялось изучение изменений состава дегидринов в хвое сосны в течение многолетних исследований (сезоны 2009-2012 гг.). В эти годы показатели среднемесячной температуры воздуха в холодные месяцы года составляли близкие к норме отрицательные значения. Нами обнаружено, что ход сезонных изменений дегидринов в хвое в изученные сезоны сохранялся однотипным. К общим закономерностям изменений этих белков можно отнести то, что уровень дегидринов (особенно низкомолекулярных) значительно возрастал в осенне-предзимний период во время подготовки растений к покою. Высокий уровень дегидринов в хвое сосны сохранялся во время зимнего покоя, когда отмечались низкие отрицательные температуры и растения достигали максимальной морозоустойчивости. В начале весны выход деревьев из покоя сопровождался снижением уровня дегидринов, особенно 15 кДа, и морозоустойчивости в целом, а самое низкое содержание дегидринов (66 кДа) отмечалось во время вегетации. Полученные данные позволяют предположить, что наличие двух групп (14-15 и 66 кДа) дегидринов является необходимым условием для формирования оптимального уровня низкотемпературной устойчивости и перезимовки сосны в условиях экстремального климата Якутии. Сходный характер сезонных изменений дегидринов выявлен и в верхушечных почках в годичном цикле роста и развития сосны обыкновенной. Таким образом, наибольшие сезонные вариации в хвое и верхушечных почках сосны проявляют низкомолекулярные дегидрины, стабильно высокий уровень которых достигается во время зимнего покоя в период низких отрицательных температур. Особенности годичного цикла стрессовых белков-дегидринов предполагают их участие в формировании высокой морозоустойчивости *Pinus sylvestris* в условиях экстремального климата криолитозоны Якутии.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания ИБПК СО РАН (№ АААА-А17-117020110054-6).

## **Влияние стимуляторов роста на индукцию ризогенеза и каллусогенеза Тисса ягодного (*Taxus baccata* L.)**

*Теплицкая Л.М.*

Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского, проспект Вернадского, г. Симферополь, Россия  
[lm\\_teplicskaya@ukr.net](mailto:lm_teplicskaya@ukr.net)

Тис ягодный – редкий, исчезающий вид флоры Крыма, привлекающий внимания благодаря способности синтезировать уникальный дитерпеновый алкалоид – таксол. Таксол используется в химиотерапии как противоопухолевый препарат, который характеризуется антимитотическим действием. В связи с этим, актуальным является изучение возможности получения клеточных культур – продуцентов таксола, а также поиск эффективных методов ускоренного и массового размножения Тиса ягодного. В результате проведенных исследований, были определены оптимальные экспланты для получения каллусной культуры Тиса ягодного. В работе использовались модифицированные по гормональному составу питательные среды на базе сред Мурасиге-Скуга и Гамборга. Каллусогенез наблюдался во всех вариантах питательных сред, в том числе и стандартных. Показано, что определяющим фактором получения каллуса является эксплант. Более высокие показатели частоты каллусогенеза наблюдались из семяпочек, верхушечных листьев и фрагментов молодых побегов, культивируемых на среде Гамборга В5 дополненной НУК, 2, 4-Д, 6 БАП. Проведенные исследования по влиянию синтетических стимуляторов роста (Циркон, Эпин, борная кислота) показали, что самый высокий показатель корнеобразования у молодых черенков наблюдался в варианте с Цирконом (0,06%). Число укоренившихся черенков составило 90%. Обработка черенков сухими дрожжами в качестве стимулятора сократило срок укоренения в 3 раза, до 7-10 дней. Длина корней за этот период составила 10-12 см. Полученные результаты позволяют использовать эти приемы для ускоренного и массового размножения Тиса Ягодного.

## Ионообменная способность клеточной стенки листа растений ивы при фиторемедиации промышленных территорий

Теребова Е.Н., Марковская Е.Ф., Андросова В.И., Рыбалова А.С.

ФГБОУВПО «Петрозаводский государственный университет», ул. Ленина, 33, Петрозаводск  
[eterebova@gmail.com](mailto:eterebova@gmail.com)

Растения рода *Salix* характеризуются высокой устойчивостью к стрессовым факторам и физиологической активностью. Это позволяет им, успешно произрастать на загрязненных территориях и депонировать тяжелые металлы из почвы и воздуха, осуществляя фиторемедиацию техногенных ландшафтов.

Работа выполнена на территории ОАО «Карельский окатыш» (Россия, Карелия, г. Костомукша). Основными компонентами выбросов этого горно-обогадительного комбината являются диоксид серы (среднегодовая концентрация 0,03 мг/м<sup>3</sup>), пылевые выбросы, содержащие тяжёлые металлы (содержание железа, марганца, никеля в почве превышает ПДК в 2-3 раза), оксид углерода и окислы азота. В 2013 году в целях фиторемедиации свалки промышленных отходов комбината были высажены разные виды *Salix*. Аборигенный виды - *S. myrsinifolia*, *S. phylisifolia*, адвентивные виды - *S. alba*, *S. acutifolia* и проходящие испытание на фиторемедиационную способность в других странах *S. schwerinii*, *S. schwerinii* x *S. viminalis* – variety *Karin*. В 2014-15 гг. производилась оценка физиологического состояния растений (уровни накопления тяжелых металлов в тканях и органах и свойства клеточной стенки листа ив).

Ионообменные свойства клеточных стенок органов и тканей имеют важное физиологическое значение, так как именно они определяют ионный состав среды, которая омывает клеточную мембрану, влияют на механические и осмотические явления в процессе роста клеток, участвуют в транспорте воды и растворенных веществ по системе апопласта. Кроме того, тяжелые металлы непосредственно связываются карбоксильными группами клеточной стенки растений. Функциональную активность клеточной стенки оценивали по количеству сорбционной емкости (количество ионогенных групп, S мкмоль/ г сух. клет. ст.) потенциометрическим методом.

В ходе исследования было установлено увеличение ионообменной способности клеточной стенки листа у всех видов ив после двух лет выращивания на техногенной территории комбината. Так, наиболее значимые отличия (в 1,5-2 раза) выявлены для общего количества групп в клеточной стенке листа у адвентивных видов *S. schwerinii* и v. *Karin*, мене значимые – также для адвентивных видов *S. alba* и *S. acutifolia* (0,3-0,5 раза) и совсем невысокие – для аборигенных видов *S. myrsinifolia* и *S. phylisifolia* (0,2 раза). При этом увеличение содержания групп после двух лет выращивания в условиях загрязнения комбината в структуре клеточной стенки листа ив происходит в основном за счет фенольных ОН-групп и в меньшей степени за счет карбоксильных групп α-D полигалактуроновой кислоты.

## Регуляция фотосинтетической активности листьев разных ярусов у различных видов пшениц в условиях засухи

Терлецкая Н.В., Зобова Н.В.\*, Ступко В.Ю.\*

Институт биологии и биотехнологии растений КН МОН РК, ул.Тимирязева, 45, Алматы, Казахстан;  
\*ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр СО РАН», пр. Свободный, 66,  
Красноярск, Россия  
[teni02@mail.ru](mailto:teni02@mail.ru)

С целью изучения фотосинтетической активности (ФА) листьев различных ярусов с использованием ПАМ-флуориметра получены новые данные, позволяющие сравнить фотосинтетическую активность различных ярусов листовых пластинок интактных растений семи видов пшеницы, различных по геномному составу (диплоид – *T. monococcum*; тетраплоиды – *T. dicoccum*, *T. polonicum*, *T. aethiopicum*; и гексаплоиды – *T. compactum*, *T. macha*, *T. aestivum*), растущих в оптимальных и стрессовых условиях. Все виды различны по происхождению, но адаптированы к условиям Юго-Востока Казахстана. Исследования проводились по 3-му, 4-му, 5-му и 6-му листьям. Третий ярус – это старые листья, частично уже утратившие хлорофилл. 6-й ярус – молодые листья возрастом не старше недели.

Как известно, более молодые листья оттягивают на себя воду в условиях дефицита влаги. Нами выявлено, что более молодые ткани быстрее реагировали на дефицит влаги снижением общей оводненности листовых пластинок, чем изменениями в работе фотосистем. Более старые листья в первую очередь отзывались на дефицит влаги изменениями в работе фотосинтетического аппарата. Отмечено, что большая оводненность листьев в стрессовых условиях соответствовала меньшей ФА у всех исследованных видов, кроме *T. aethiopicum*. Вероятно, снижение оводненности и повышение концентрации клеточного сока приводит к увеличению эффективности фотосинтетических реакций. У всех видов кроме *T. aethiopicum*, увеличение  $Y(II)$  происходило от третьего листа к шестому, более молодому. При этом у ряда видов показано отсутствие отличий в показателях  $Y(II)$ ,  $Y(NO)$ ,  $Y(NPQ)$  в стрессовых и контрольных условиях, а зачастую и превышение показателей  $Y(II)$  над контрольными в вариантах без полива. В ходе анализа ФА четырех ярусов листьев нами были выделены три группы:

1. виды с более высоким уровнем  $Y(II)$  и  $Y(NO)$  в условиях недостатка влаги, и низким  $Y(NPQ)$ .
2. виды с уровнями  $Y(II)$ ,  $Y(NO)$ ,  $Y(NPQ)$  в стрессовых условиях близкими к контрольным.
3. виды, реагирующие на индуцированную засуху при использованном уровне давления стрессора снижением  $Y(II)$  и повышением  $Y(NO)$ .

При этом у видов первой группы  $Y(NPQ)$  в контрольных условиях оставался более высоким, а показатели  $Y(NO)$  были ниже, чем в стрессовых. Низкий уровень  $Y(NPQ)$  и высокий  $Y(NO)$  при стрессе свидетельствует о том, что стрессор оказывает влияние на растение, но повреждения не настолько велики, чтобы отразится и на эффективности фотохимических реакций фотосинтеза. Можно предположить, что уже включившиеся защитные механизмы приводят к такому соотношению показателей ФА.

Согласно модели пороговой устойчивости, попадание вида во вторую группу свидетельствует о том, что стресс в данном случае для него был умеренным.

Виды, попавшие в третью группу, достигли или перешли свой пороговый уровень.

Состав групп в зависимости от яруса менялся. Так, вид *T. aestivum*, имевший наиболее стабильные показатели от яруса к ярусу, попадал в 1-ю группу по результатам оценки всех четырех уровней листьев. Виды *T. monococcum* и *T. compactum* с увеличением яруса переходили во вторую группу на фоне снижения  $Y(NO)$  при постоянном уровне  $Y(NPQ)$ : *T. monococcum* на четвертом, а *T. compactum* – на третьем листе. Вид *T. dicoccum* перешел на четвертом листе во вторую группу и затем вернулся в первую. Это произошло, поскольку в контрольных условиях показатели  $Y(II)$  и  $Y(NPQ)$  четвертого, пятого и шестого листа имели близкие значения, а в условиях засухи – пятого и шестого. Таким образом, на фоне увеличения  $Y(II)$  и снижения  $Y(NPQ)$  для верхних листьев в условиях отсутствия полива получена картина, характерная для первой группы. Однако стрессированность данного вида с увеличением яруса листьев возрастала. Вид *T. macha* на пятом листе перешел во вторую группу:  $Y(NPQ)$  снизился и  $Y(II)$  возрос при близком к показателям четвертого листа уровне  $Y(NO)$ . У более молодых листьев данного вида в условиях засухи эффективность фотохимических реакций была выше, чем у более старых. Это в свою очередь говорит о снижении уровня стрессированности. У вида *T. aethiopicum* более молодые листья оказались более чувствительными к воздействию дефицита влаги.

При этом отсутствие сформированного шестого листа в условиях дефицита влаги рассматривается нами как индивидуальный защитный механизм вида, признак динамической засухоустойчивости.

Таким образом, на основе анализа ФА различных ярусов, мы можем предположить, что максимальный уровень засухоустойчивости имел вид *T. aestivum*, близкий к нему – *T. dicoccum*. Наименее устойчивым был вид *T. aethiopicum*, для которого достигнут пороговый уровень. Вероятно, восприимчивостью к засухе близкой по степени к *T. aethiopicum* обладает вид *T. macha*, нижние ярусы которого в эксперименте достигли порогового уровня стресса, а верхние листья – умеренного.

## Новые регуляторы роста и развития растений дитерпеновой природы

*Тимофеева О.А., Невмержицкая Ю.Ю., Алмуграби Е.*

Казанский (Приволжский) федеральный университет. Кремлевская, 18, Казань, Россия  
[otimofeeva2008@mail.ru](mailto:otimofeeva2008@mail.ru)

Исследования физиологии устойчивости растений к засухе и поиски путей её повышения стали актуальной задачей современного растениеводства (Wang et al., 2003). Одним из перспективных направлений повышения устойчивости растений к действию различных стрессоров является применение регуляторов роста. В связи с этим привлекают интерес исследователей соединения дитерпеновой природы, среди которых особое место занимает дитерпеновый гликозид стевиозид, получаемый из растений стевии. Показано, что стевиозид стимулирует рост пшеницы и повышает морозоустойчивость (Тимофеева и др., 2010) и устойчивость растений к тяжелым металлам (Невмержицкая и др., 2013).

Цель работы состояла в выявлении особенностей действия стевиозида на разные сорта яровой пшеницы в условиях засухи. Объектом исследования были сорт Омская 33 российской селекции и Tamo2 2, иракской селекции. Показано, что засуха ингибирует ростовые процессы: на 14,2% у сорта Омская 33 и на 9,3% - у сорта Tamo2 2 по сравнению с контрольными растениями. Стевиозид ( $10^{-8}$  М) не влиял на высоту растений обоих сортов пшеницы. Однако у растений, обработанных стевиозидом, влияние засухи на рост не наблюдалось.

Устойчивость растений к засухе во многом определяется водным режимом, присущим данному сорту. Сорта, находящиеся в одинаковых условиях засухи и сохраняющие более высокую оводненность тканей, создают лучшие условия для протекания всех физиологических процессов в растениях. При действии засухи содержание воды у Омской 33 снизилось на 10%; у Tamo2 2 – не изменилось. У Омской 33 на фоне засухи стевиозид способствовал повышению содержания воды до уровня контрольных растений, у Tamo2 2 стевиозид не изменял содержание воды, т.е. ее количество оставалось на уровне контрольных растений. Таким образом, стевиозид повышал содержание воды в варианте с засухой только у сорта Омская33, более чувствительного к водному дефициту.

Воздействие почвенной засухи приводило к значительному повышению уровня перекисного окисления липидов. Содержание МДА при действии засухи увеличилось у Омской 33 до 230% от контроля, у Tamo2 2 – до 186%. Предпосевная обработка стевиозидом уменьшала эффект засухи на ПОЛ у сорта Омская 33 на 66,45%, у сорта Tamo2 2 - на 37,62%. Таким образом, в условиях водного дефицита у сорта Tamo2 2 наблюдалось меньшее окисление липидов плазматической мембраны по сравнению с Омской 33. Это свидетельствует о том, что данный сорт является более устойчивым к засухе. При этом стевиозид в большей степени уменьшал ПОЛ у сорта Омская 33, в котором более активно протекали процессы ПОЛ при действии засухи.

У сорта Омская 33 под влиянием засухи содержание пролина составило 317,6% от контроля, у сорта Tamo2 2 – 426,6%. Стевиозид снижал содержание пролина у Омской 33 на 53%, у Tamo2 2 на 40% от уровня контрольных растений. Полученные результаты могут свидетельствовать о защитном действии стевиозида на растения в условиях засухи. Почвенная засуха стимулировала активность каталазы, аскорбатпероксидазы и растворимой пероксидазы у обоих сортов пшеницы. Предварительная обработка стевиозидом уменьшала влияние водного дефицита на активность антиоксидантных ферментов сорта Tamo2 2. Таким образом, стевиозид в большей степени влиял на антиоксидантные ферменты более устойчивого сорта.

## Влияние содержания 6-бензиламинопурина (БАП) на дифференциацию клеток ксилемы у растений-регенерантов *Iris sibirica* L.

Тихомирова Л.И.

Алтайский государственный университет, пр. Ленина 61, г. Барнаул, Россия  
[L-tichomirova@yandex.ru](mailto:L-tichomirova@yandex.ru)

На этапе собственно микроразмножения для *I. sibirica* были заложены варианты опыта с различной концентрацией БАП (2.5, 5.0, 7.5 и 10.0) в питательных средах. Исследования препаратов побегов, выращенных на разных концентрациях БАП, показали определённые отличия в гистологическом плане. На питательных средах, содержащих 1,0-5,0 мкМ БАП побеги морфологически и анатомически были не изменены. При введении 7,5 мкМ БАП в питательные среды наблюдали сильно плазмолизированные клетки паренхимы центрального цилиндра и первичной коры побегов. Основную площадь в сечении корневища занимал центральный цилиндр с гипертрофированной проводящей тканью. Вероятно, под влиянием токсического действия высоких концентраций гормона. При концентрациях БАП 7,5-10,0 мкМ недоразвитие элементов ксилемы и флоэмы компенсировалось массовым формированием гидроцитов. Особые трахеальные элементы формирующиеся в эксплантах в культуре *in vitro* В.Г. Александров (1966) определил как гидроциты. При 10 мкМ БАП, по всей видимости, токсическое действие высоких концентраций БАП и недостаток ауксинов, проявлялся у регенерантов, прежде всего, в слабом развитии проводящих тканей. Возможно, при активных регенерационных процессах связанных с действием данных концентраций БАП сосуды и ситовидные трубки адвентивных побегов не успевают формироваться и гидроциты сопровождали проводящие пучки, осуществляя, таким образом, связь с материнским корневищем. В том случае, когда концентрация БАП выше 10,0 мкМ у *I. sibirica* подавлено развитие всей проводящей системы. У регенерантов проводящие пучки были в незначительном количестве, гидроциты не выявлены, и как следствие побегообразовательной деятельности не наблюдали.

По нашему мнению анатомическое строение растений *I. sibirica* в культуре *in vitro* больше схоже со строением растений засушливых мест обитания. Проводящие пучки коллатеральные с большим количеством склеренхимы, обкладки проводящих пучков расположены часто прямо в паренхиме. Вероятно, это связано с концентрацией солей, растворённых в питательной среде MS. При этом влажность воздуха в сосуде культивирования достаточно высокая (устыица не закрываются). Процесс формирования пробки и гидроцитов на базальном конце побега растения-регенеранта *I. sibirica* инициирован не только поранением вследствие очищения некротизированных участков при пересадке каждые 30 суток, но и условиями выращивания на искусственных питательных средах. Концентрация макро- солей в среде, по-видимому, оказывает влияние как гипертонический раствор, вынуждая содержимое паренхимных клеток в центральной части побега плазмолизироваться, а по мере приближения к базальному концу побега одревесневать клеточную стенку с последующей гибелью клетки.

Известно, что цитокинины позитивно влияют на активность апикальных меристем побега, формирование примордиев листьев и развитие сосудов побега. Но физиологический эффект цитокининов зависит от их концентрации и может быть отрицательным. У растений высокий уровень цитокининов подавляет пролиферацию и приводит к гибели клеток. Введение в питательные среды цитокининов необходимо для заложения и формирования адвентивных и пазушных побегов. Повышение количества гормона ведёт к массовому процессу побегообразования, а это в свою очередь определяет дополнительную нагрузку на проводящую систему материнского побега. Определённое количество проводящих пучков генетически закреплено у видов. Процесс формирования пучка требует определённого времени, а адвентивные побеги закладываются каждые 30 суток (на этом основано микрклональное размножение) и им необходимы питательные вещества и вода для развития. Возможно, наиболее оптимальным для растения в данном случае явилось формирование гидроцитов. Очень быстро у регенерантов развивается сложная система, состоящая из проводящих пучков, содержащих ситовидные трубки, сосуды и трахеиды, а также сети гидроцитов.

По своему строению, гидроциты – это трахеиды с утолщениями (спиральными, кольчатыми, точечными), но, в отличие от трахеид и сосудов ксилемы (они образуются на базе прокамбия или камбия – особых латеральных первичной или вторичной меристем), гидроциты дифференцируются из клеток постоянных тканей (подобно феллогену), которые, вероятно, на момент дифференциации обладали меристематической активностью. Гидроциты не являются результатом деятельности апикальных меристем. Они способствуют проведению метаболитов в области гистогенеза и органогенеза и образуют «мостики» между тканями материнского побега и клетками адвентивных побегов и корней, которые формируются в точках морфогенеза из апикальных меристем. Это очень важно. Таким образом проявляются механизмы морфогенеза, как ответ на биохимический состав питательной среды и физиологическое состояние материнского растения.

Но процесс размножения гидроцитов не может быть бесконечным. Под влиянием высоких концентраций БАП наступает такой момент, когда их количество становится избыточным, и они заполняют весь центральный цилиндр, вытесняя паренхиму и угнетая проводящие пучки. Побег испытывает недостаток в воде и питании, внешне выглядит угнетённым с пониженным тургором тканей. Растение перестаёт размножаться и в конечном итоге гибнет.



## Накопление биологически активных веществ у *P. alba* L. в зависимости от способа выращивания

Тихомирова Л.И., Базарнова Н.Г., Сысоева А.В.

Алтайский государственный университет, пр. Ленина 61, Барнаул, Россия  
[L-tichomirova@yandex.ru](mailto:L-tichomirova@yandex.ru)

Важнейшей задачей для развития фармацевтической и пищевой промышленности, лесного комплекса и смежных отраслей является обеспечение возобновляемым сырьем с необходимыми свойствами. Многолетние исследования доказали высокую эффективность гидропонического производства растений сопряженного с микроклональным размножением. Растительный материал, полученный в культуре *in vitro*, освобожден от грибных и бактериальных инфекций, имеет более высокую силу роста в регулируемых условиях питания и факторов внешней среды.

*P. alba* содержит углеводы (крахмал), иридоиды, сапонины, фенолкарбоновые кислоты, флавоноиды, дубильные вещества (Гриценко и Смык 1977; Лавренов и Лавренова 1999; Семёнова и Преснякова 2001). Лекарственные средства на основе *P. alba* оказывают влияние на щитовидную железу (Захария 1997; Архипова 2012). Несмотря на то, что растение наиболее широко применяется при лечении гиперфункции железы (тиреотоксикозе), отмечен положительный эффект и при лечении гипофункции (Смык 1975; Приходько 1976). Именно тиреотропной активностью корней лапчатки белой исследователи объясняют тот факт, что в Белорусском Полесье, где распространена практика употребления лапчатки в виде отвара вместо чая, после аварии на Чернобыльской АЭС было зафиксировано крайне мало случаев заболевания эндемическим зобом по сравнению с другими районами, прилегающими к месту трагедии (Лавренов и Лавренова 1999). Кроме того, фитотерапевты рекомендуют применять *P. alba* при профилактике и терапии заболеваний печени, сердечно-сосудистой системы и желудочно-кишечного тракта, а также как антисептическое и ранозаживляющее средство (Шимко и Хишова 2010).

Целью данной работы являлось разработка биотехнологического способа получения сырья *P. alba*, сохраняющего химический состав и биологическую активность сравнимую с интактными растениями.

Для получения возобновляемого сырья *P. alba* разработана биотехнология микроклонального размножения и выращивания в условиях гидропоники. При круглогодичном выращивании количество биомассы лапчатки белой по данному способу в условиях гидропонной установки «Минивит» составляло 10,05 кг/м<sup>2</sup> по сырой массе за один год (патент РФ № 2570623). Интактные растения *P. alba*, выращенные в полевых условиях в течение трёх лет, предоставлены ЗАО «Эвалар».

Значительную противовирусную активность в отношении вируса герпеса проявили водные экстракты *P. alba*. При невысокой токсичности и интактные растения, и растения-регенеранты имели относительно высокий индекс селективности: 85 и 64, соответственно. Спиртовые экстракты этих растений обладали слабой противовирусной активностью (ED<sub>50</sub> равен разведению 1:160), и, несмотря на слабую токсичность (CD<sub>50</sub> >1:40), имели очень низкий индекс селективности (>4). Особо следует отметить, что данные, полученные для интактных растений и растений регенерантов сопоставимы: все показатели отличаются не более чем в 2 раза, что не превышает ошибку метода (Базарнова и др., 2016).

Определено количественное содержание экстрактивных веществ. В результате последовательной обработки биомассы *Potentilla alba* гексаном, 96%-ным, 40%-ным растворами этанола, водой и 1%-ным водным раствором гидроксида натрия установлено, что суммарное содержание экстрактивных веществ в корнях и корневищах интактных растений составляет 15,3%, в корнях растений-регенерантов – 11,2%, в биомассе надземной части растений-регенерантов – 5,1%.

Биологически активные вещества в растениях-регенерантах идентичны биологически активным веществам интактного растения идентифицированных с помощью качественных реакций. Методом ТСХ установлено, что в экстрактах 96%-ного водного раствора этанола, полученных из биомассы корней и корневищ интактных растений, корней и надземной части растений-регенерантов содержится 4 одинаковых группы веществ с, что соответствует цинарозиду, 0,61 – рутину, 0,93 – апигенину, 0,97 – кверцетину.

В составе экстрактов, доминирующими являются соединения фенольной природы.

Определено количественное содержание гликозидов в абсолютно сухом сырье для интактных растений 1,072±0,008 %, для растений-регенерантов 0,876±0,012 %. Содержание дубильных веществ у интактных растений 8,691±0,093 %, у растений-регенерантов 6,377±0,124 %. Производные кумарина в интактных растениях - 0,226±0,047%, у растений –регенерантов определяли в среднем 1,081±0,178%. Содержание суммы флавоноидов в пересчёте на кверцетин в интактных растениях составляет 1, 436±0,117%, в растениях-регенерантах 2,752±0,183 %.

Таким образом, лекарственное растительное сырьё *P. alba*, полученное в условиях гидропоники, сопряженной с микроклональным размножением (возраст растений 2 месяца) идентично по качественному составу и незначительно уступает по количественному содержанию биологически активных веществ сырью, выращенному в полевых условиях ЗАО «Эвалар» (3-4 года). Установлено, что интактные растения и растения-регенеранты проявляют сопоставимую биологическую активность в отношении вируса герпеса.

## Продукционные характеристики фитоценоза искусственной экосистемы при использовании органических отходов в качестве источников минерального питания

Тихомирова Н.А., Ушакова С.А., Величко В.В., Трифонов С.В., Шихов В.Н., Павлова А.М., Морозов Е.А., Анищенко О.В., Тихомиров А.А.

Институт биофизики СО РАН. Академгородок, 50, Красноярск, Россия  
[n.tikhomirova@mail.ru](mailto:n.tikhomirova@mail.ru)

В замкнутой искусственной экосистеме, где высшие растения играют ключевую роль в биологической регенерации окружающей среды и являются поставщиками растительной пищи для человека, одной из главных проблем является включение органических отходов во внутрисистемный круговорот. Ранее в Институте биофизики СО РАН были отработаны и успешно апробированы технологии минерализации органических отходов с последующим использованием продуктов минерализации в качестве источников минерального питания растений. Однако необходимо также исследовать влияние газовой составляющей продуктов физико-химической переработки органических отходов на продукционные характеристики растений. В экспериментальной модели замкнутой экосистемы (ЗЭС) в состав фототрофного звена были включены растения пшеницы (*Triticum aestivum* L. линия 232 селекции Г.М. Лисовского), чуфы (*Cyperus esculentus* L.), моркови (*Daucus carota* L., сорт «Витаминная б»), свеклы (*Beta vulgaris* L., сорт «Бордо 232»), редиса (*Raphanus sativus* L., сорт «Моховский»), салата (*Lactuca sativa* L., сорт «Московский парниковый»), солероса европейского (*Salicornia europaea* L.) и водяного кресс-салата (*Nasturtium officinale* R. Br.). Экспериментальная модель ЗЭС состояла из двух, соединенных между собой, вегетационных камер, каждая объемом 3 м<sup>3</sup>. Общая посевная площадь растений составляла 1,8 м<sup>2</sup> при объеме всей экспериментальной модели ЗЭС 6 м<sup>3</sup>. Освещение круглосуточное, интенсивность ФАР на уровне листьев верхнего яруса была 690-750 мкмоль/м<sup>2</sup>·с, температура воздуха 24 ± 1 °С. Относительная влажность воздуха составляла 65- 73%. Концентрацию СО<sub>2</sub> поддерживали на уровне 1100 – 2500 ppm. Первый блок фототрофного звена, фитоценоз, культивируемый на ППС, состоял из конвейеров свеклы и моркови, салата и редиса с шагом 7 суток и конвейера чуфы с шагом 14 суток. Перед посевом очередного поколения растений редиса, салата, моркови, свеклы и чуфы в ППС вносили несъедобную биомассу убранных растений и солому пшеницы. Полив растений осуществляли один раз в сутки несменяемыми питательными растворами, в которых находились экстрагируемые из ППС минеральные вещества. Во втором блоке фототрофного звена растения пшеницы выращивали методом гидропонии на керамзите. Конвейер пшеницы был представлен 10 возрастами с шагом 7 суток от посева. Длительность вегетации растений пшеницы продолжалась 70 сут. В качестве источника минеральных элементов были использованы минерализованные плотные и жидкие выделения человека. После уборки созревшей пшеницы питательный раствор был использован для выращивания растений солероса европейского и водяного кресс-салата. После окончания формирования конвейеров растений, выращиваемых методом гидропонии на керамзите и на ППС, вегетационные камеры с растениями были замкнуты друг на друга по массообменным процессам и было проведено тестирование системы как единого целого. Было проведено 3 цикла последовательного замыкания системы длительностью 7, 7 и 10 суток. В конце каждого цикла перед началом следующего происходила уборка растений, достигших состояния технической зрелости и посев следующего поколения (для поддержания структуры конвейера). Во время 3-го цикла замыкания было проведено тестирование газа, выделяемого в реакторе при минерализации экзометаболитов человека, на наличие в них токсичных газов. Продуктивность растений, достигших состояния технической зрелости перед началом тестирования и в ходе трех циклов замыкания не имела достоверных отличий. Добавление газа, выделяемого при минерализации органических отходов, в экспериментальную модель ЗЭС, не оказало влияния на площадь листьев и процент сухого вещества в листьях, как конвейера пшеницы, так и овощных культур и чуфы. Содержание фотосинтетических пигментов в листьях растений салата и редиса не претерпело никаких достоверных изменений после введения в систему газовой составляющей продуктов физико-химической переработки органических отходов в сравнении с исходными значениями. Для листьев растений чуфы и свеклы было зафиксировано достоверное увеличение содержания хлорофиллов *a* и *b* после введения в систему газовых продуктов физико-химического реактора. У растений конвейера пшеницы наблюдали неоднородную картину реакции содержания фотосинтетических пигментов в листьях после введения в систему газовых продуктов физико-химического реактора. Так, у разных возрастов в конвейере происходил рост концентрации в листьях либо только хлорофилла *a*, либо хлорофилла *b*, либо обеих форм хлорофиллов. В то же время концентрация каротиноидов в листьях растений растительного конвейера всех исследованных видов не изменилась после введения в систему газовой составляющей продуктов физико-химической переработки органических отходов в сравнении с исходными значениями. Несмотря на то, что газовая составляющая продуктов физико-химической переработки органических отходов не оказала значимого влияния на продукционный процесс фитоценоза в краткосрочном эксперименте, в более длительных экспериментах может происходить накопление токсичных для растений газов, в связи с чем необходимо проводить окисление газообразных веществ, образующихся в результате физико-химической минерализации органических отходов.

Работа выполнена в ИБФ СО РАН при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект 14-14-00599).

## Влияние бактерий рода *Azospirillum* на клубнеобразование и содержание крахмала в мини- и микроклубнях картофеля

Терентьева Е.В., Ткаченко О.В., Евсеева Н.В. \*, Бурыгин Г.Л. \*, Матора Л.Ю. \*, Щеголев С.Ю. \*

Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова, Театральная пл., 1, Саратов, Россия;  
\*Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, пр. Энтузиастов, 13, Саратов. Россия  
[elena-terenteva@inbox.ru](mailto:elena-terenteva@inbox.ru), [oktkachenko@yandex.ru](mailto:oktkachenko@yandex.ru)

Биотехнологические методы в семеноводстве картофеля направлены на усиление эффективности производства оригинальных семян, обеспечивающего повышение коэффициента размножения и качества клубней. В предварительных работах нашего коллектива было показано, что ассоциативные ризобактерии рода *Azospirillum* способны стимулировать рост и развитие растений картофеля в культуре *in vitro*, усиливать их адаптацию и повышать продуктивность в условиях *ex vitro*.

Целью данной работы являлось исследование влияния бактерий *Azospirillum brasilense* Sp245 на формирование мини- и микроклубней картофеля сортов Кондор и Невский, а также на среднюю площадь крахмальных гранул и содержание в них крахмала.

Микроклубни получали на микрорастениях, культивируемых *in vitro* на питательной среде Мурасиге и Скуга с содержанием 6% сахарозы и фотопериоде 12 часов на этапе клубнеобразования. Мини-клубни получали на растениях, предварительно полученных методом клонального микроразмножения *in vitro*, а затем выращенных аэропным способом в установке «Урожай 9000». В опытных вариантах к микрочеренкам картофеля, культивируемым *in vitro* для получения микроклубней, или в питательный раствор аэропной установки добавляли бактериальную суспензию *A. brasilense* Sp245 таким образом, чтобы итоговая концентрация бактерий составляла  $10^6$  клеток на 1 мл питательной среды или раствора. Контролем служили микрорастения, выращенные без инокуляции бактериями.

Оценивали морфологические параметры роста растений (число и длина побегов, количество узлов на побеге, площадь листьев), количество микро- или мини-клубней на растении и их размер. Среднюю площадь крахмальных гранул определяли с помощью комбинированной системы анализа изображений Ageol (Genetix, Великобритания). Содержание крахмала в микроклубнях определяли стандартным колориметрическим методом. Полученные данные были подвергнуты двухфакторному дисперсионному анализу.

Было установлено, что инокуляция картофеля культурой *A. brasilense* Sp245 не увеличивала количество микроклубней *in vitro*, но положительно влияла на размер крахмальных гранул и содержание крахмала в них. У сорта Кондор средняя площадь гранул в опытных образцах микроклубней увеличивалась в 1,3 раза. У сорта Невский увеличение размера гранул под влиянием бактерий было менее заметным. В то же время, содержание крахмала у сорта Кондор в опытных образцах увеличивалось почти в 1,5 раза, а у сорта Невский – в 1,7 раза

В аэропной установке на растениях, инокулированных бактериями, увеличивалось количество листьев и их площадь, а также продуктивность растений (количество и вес клубней в расчете на одно растение). Содержание крахмала в мини-клубнях в опытных вариантах увеличивалось приблизительно в 1,5 раза, а средняя площадь крахмальных гранул увеличивалась приблизительно на 10% в мини-клубнях сорта Невский и на 16% у сорта Кондор.

Таким образом, впервые установлено, что инокуляция микрорастений *in vitro* бактериями *A. brasilense* Sp245 стимулирует рост и повышает продуктивность картофеля в различных условиях *ex vitro*, а также увеличивает размер крахмальных гранул и содержание крахмала в микро- и мини-клубнях картофеля. Можно предположить, что азоспириллы влияют на процессы, регулирующие инициацию крахмальных гранул, а также на активность ферментов, участвующих в синтезе крахмала. Полученные данные могут быть использованы в агробиотехнологиях для повышения количества и качества получаемого оздоровленного семенного материала картофеля.

**Влияние повышенных концентраций ионов меди на рост и биосинтетические характеристики суспензионной культуры клеток *Tribulus terrestris* L.**

Томилова С.В. \*, Кочкин Д.В. \*\*\*, Носов А.М. \*\*\*

\*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова. 119991, ул. Ленинские горы, 1, стр. 12, Москва, Россия;

\*\*Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева. 127276, ул. Ботаническая, 35, Москва, Россия.  
[lanatomilova@yandex.ru](mailto:lanatomilova@yandex.ru)

Медь принадлежит к эссенциальным элементам, которые в небольших количествах необходимы для метаболизма, роста и развития растений. Несмотря на важность данного элемента для растений, он относится к тяжелым металлам, которые при высоких дозах являются серьезным стрессовым фактором для большей части растительных организмов. В отличие от большинства тяжелых металлов, высокая реакционная способность меди, полезная в редокс-реакциях, делает ее токсичной даже при сравнительно невысоких концентрациях. Известно, что для повышения образования вторичных метаболитов в клетках *in vitro* широко применяют различные стрессовые воздействия. В настоящей работе представлены результаты исследования влияния повышенных концентраций ионов меди на образование стероидных гликозидов в суспензионной культуре клеток якорцев стелющихся *Tribulus terrestris* L.

В качестве объекта исследования была использована суспензионная культура клеток якорцев стелющихся *T. terrestris*, штамм Tter 8 (коллекционный №81 в ВККК ВР). Культура получена в ИФР РАН в 2014 году М.Т. Ханды и Е.С. Сухановой из каллусной культуры клеток, индуцированной из семян растения *T. terrestris* американской популяции (Forever Seeds Company, США). Контрольную культуру клеток *T. terrestris*, которую выращивали на стандартной среде MS с концентрацией ионов меди 0,1 мкМ, пересаживали на питательные среды с повышенным содержанием ионов меди (от 0,5 до 10 мкМ). Культивирование проводили в колбах объемом 250 мл в темноте на качалке (100 об./мин.) при 26°C. В течение цикла выращивания определяли жизнеспособность культур клеток, сырой и сухой вес биомассы. Качественную оценку содержания фураностаноловых гликозидов (ФГ) в сухой биомассе клеток проводили методом ТСХ (хроматографическая пластинка Kieselgel 60 (Merck, Германия), система растворителей хлороформ-метанол-вода (65:35:10, по объему), проявитель – 1% раствор реактива Эрлиха), количественную концентрацию ФГ определяли спектрофотометрически при 520 нм на спектрофотометре «Униплан» (ЗАО «Пикон», Россия) по окрашиванию спиртовых экстрактов с реактивом Эрлиха. В качестве стандарта использовали фураностаноловые гликозиды, выделенные из культуры клеток *Dioscorea deltoidea* Wall. (препарат «Дельтостим») с чистотой 85%.

В результате проведенных экспериментов показано, что в первом цикле выращивания повышение концентрации ионов меди не оказывает существенного влияния на ростовые характеристики суспензионной культуры *T. terrestris*. Увеличение концентрации ионов меди в питательной среде в 5, 10, 20 и 30 раз также не приводило и к заметному падению жизнеспособности культуры клеток (70 – 80% к концу периода культивирования), значительное снижение данного показателя наблюдалось только при повышении содержания ионов меди в 50 и 100 раз (ниже 50% к концу периода культивирования).

Исходя из полученных результатов, для изучения длительного влияния повышенных концентраций меди на рост культуры *T. terrestris* и ее биосинтетические характеристики, был выбран вариант с содержанием в среде выращивания 2 мкМ ионов меди (увеличение концентрации в 20 раз по сравнению с контролем). Для данного варианта культуры клеток была отмечена жизнеспособность на уровне 83 – 85% и индекс роста 10, что соответствует показателям контрольной культуры клеток.

Анализ качественного состава и количественного содержания ФГ в полученных вариантах суспензионной культуры клеток *T. terrestris* показал увеличение накопления данных соединений. Судя по результатам анализа качественного состава методом ТСХ, активация синтеза происходила уже при повышении концентрации ионов меди в среде в 5 раз по сравнению с контролем. На всех хроматографических пластинках отмечено наличие 2-х отчетливых пятен розового цвета, которые могут быть идентифицированы как ФГ.

Для варианта, содержащего 2 мкМ ионов меди в среде, проводили качественный и количественный анализ ФГ в начале (3 – 9 сутки) и конце (14 сутки) первого пассажа на новой среде и в последующих субкультивированиях. Увеличение содержания ФГ наблюдалось уже в начале первого субкультивирования (1,08 мг/г сухой массы) по сравнению с контрольной культурой (0,86 мг/г сухой массы), максимум накопления отмечен к концу первого субкультивирования (2,26 мг/г сухой массы). Для последующих пассажей показано снижение синтеза и стабилизация накопления ФГ на уровне 1,35 мг/г сухой массы.

Таким образом, можно сделать заключение, что стрессовые факторы, а именно высокие концентрации ионов меди, способны стимулировать образование стероидных гликозидов в культурах клеток высших растений. Еще одним примером стимуляции синтеза и накопления вторичных метаболитов в культуре клеток с помощью увеличения концентрации ионов меди в питательной среде является синтез шиконина в суспензионной культуре *Lithospermum erythrorhizon* Sieb. et Zucc.

**Биотехнологическое использование фикобилипротеинов сине-зеленых и красных водорослей***Тропин И.В., Стадничук И.Н.\**

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова. Ленинские горы, 1, Москва, Россия

\*Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН. Ботаническая ул., 35, Москва, Россия  
[stadnichuk@mail.ru](mailto:stadnichuk@mail.ru)

Пигментированные антенные фотосинтетические белки-фикобилипротеины (ФБП) благодаря большому содержанию в клетке и широкой области спектров поглощения определяют окраску сине-зеленых и красных водорослей и их возможные ареалы обитания.

С участием ФБП были выявлены и изучены многие важные для биологических наук эффекты и явления. Среди них теория эндосимбиоза хлоропластов, теории филогенетической световой и хроматической адаптации водорослей и выяснение метаболических путей синтеза тетрапирролов. Наряду с фундаментальными проблемами все большее внимание уделяется прикладному использованию ФБП. В начале XX века Т. Сведберг использовал ФБП для развития методологии градиентного ультрацентрифугирования макромолекул. Интенсивная флуоресценция определяет разностороннее применение ФБП в медицине, фармации и в других областях. Флуоресценция С-фикоцианина, наблюдаемая непосредственно в клетке, может использоваться для мониторинга лабораторных культур цианобактерий, детекции очистки питьевой воды и высотного зондирования состояния водоемов. Благодаря высокому квантовому выходу излучения и большим коэффициентам экстинкции ФБП применяются в гистохимии, проточной цитофлуориметрии, клеточном флуоресцентном сортинге, флуоресцентной иммунодиагностике и при детектировании макромолекул. Конъюгаты ФБП в качестве флуоресцентных маркеров с моноклональными антителами, биотином и авидином используются во флуоресцентном анализе на базе клеточных сортиров. Фикоэритрин в тандеме с флуоресцеином применяют для двойного мечения антител. Двойная метка считается перспективной при диагностике онкологических заболеваний и СПИДа. Кроме того, фикоэритрин является флуоресцентным агентом в геномном анализе при создании ДНК-микрочипов. Меченый фикоэритрином стрептавидин дает интенсивный сигнал при связывании с элементами чипа, содержащими участки ДНК, соединенной с биотином. Активный поиск БАВ у микроводорослей привел к обнаружению многочисленных защитных свойств ФБП. Установлено, что самый распространенный из них, С-фикоцианин, обладает антиоксидантными, нейро- и гепатопротекторными свойствами и рядом других качеств, предполагающих активность в предотвращении патологических состояний, вызываемых окислительным стрессом.

Для клинической фармакологии оказались перспективными такие эффекты действия С-фикоцианина как подавление нефротоксикоза, ингибиторное воздействие на рост клеток лейкемии человека, уменьшение апоптоза, вызываемого энтеровирусами, падение уровня опухолевых факторов некроза в плазме крови и нейропротекторное действие в культуре церебральных клеток подопытных животных. У человека С-фикоцианин повышает выработку ферментов почек и печени (цитохром Р-450, супероксиддисмутаза, каталаза и др.), стимулируя детоксикационную функцию этих органов. При нанесении на покровы в составе липосом С-фикоцианин проявляет противовоспалительное действие. Он оказывает также нейропротекторное действие при церебральной ишемии и наряду с порфиринами может использоваться как фотосенсибилизатор в лазерной терапии рака кожных покровов. Предложен механизм защитного действия С-фикоцианина, основанный на сходстве химического строения его хромофоров и билирубина, являющегося продуктом естественного разрушения гема при катаболизме гемоглобина. Билирубин является физиологическим антиоксидантом, ингибирующим окисление белков и ароматических аминокислот в плазме крови и регулирующим содержание холестерина. Обезвреживание билирубином активных форм кислорода за счет обратимого формирования дополнительной углеродной двойной связи в молекуле оказывает защитное действие на альбумины и другие белки плазмы.

Потребности в натуральных красителях, используемых в пищевом производстве, косметологии, в создании детских игрушек постоянно растут, что обусловлено токсичностью используемых в настоящее время синтетических красок. При этом С-фикоцианин как пигмент предпочтительнее и натуральной гардении голубой, и индиго, так как дает более яркую синюю окраску. Различные препараты из сине-зеленой водоросли спирулины, содержащие С-фикоцианин, используются в качестве БАДов. Производители добавляют С-фикоцианин в ферментированные молочные продукты, мороженое, чипсы, крекеры, безалкогольные напитки, жевательную резинку, мармелады, фруктовые и ореховые плитки. В косметическом производстве С-фикоцианин служит красящим веществом в зубных пастах, тальке, каолиновой пудре, в лосьонах для тела и различных сортах мыла. Это дорогая натуральная косметика, которая находит ограниченное применение.

По индексированным к 2008 году данным, получено 297 патентов, связанных с ФБП, их использованием в качестве флуорофоров, применением в фармакологии, косметологии и пищевой промышленности. Мировое производство ФБП продолжает расти и современное применение ФБП стало очень разнообразным. В будущем создание марикультур красных микро- и макроводорослей и широкое освоение прибрежных зон морей и океанов дадут к этому новые возможности.

## **Некоторые эффекты олигосахаринов в гетерологичных системах**

*Трофимова О.И., Ларская И.А., Горшкова Т.А.*

ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, ул. Лобачевского, 2/31, Казань, Россия.  
[trofimova@kibb.knc.ru](mailto:trofimova@kibb.knc.ru)

Благодаря тому, что клеточная стенка растений, является метаболически активным компартментом клетки, она выполняет не только защитную функцию, но активно вовлечена в регуляцию различных процессов, протекающих в растениях. Это происходит при участии олигосахаринов - олигосахаридных фрагментов полисахаридов клеточной стенки, обладающих физиологической активностью.

Из корней закаленных проростков озимой пшеницы были получены фракции олигосахаридов, одна из которых обладала способностью повышать морозоустойчивость озимых растений, оцениваемую по выходу электролитов из тканей. Эффект олигосахарина исследовался на контрастных по устойчивости сортах ржи и пшеницы. Было показано, что предобработка этим эффектором до помещения проростков на закаливание, приводила к повышению морозоустойчивости всех протестированных образцов. Независимо от степени устойчивости сорта (низко-, средне- и высокоустойчивый), олигосахарин стабильно повышал устойчивость проростков пшениц на 15-20 %, а проростков ржи на 10-15%.

Проведенные эксперименты позволяют предположить, что подобные биологически активные фрагменты полисахаридов клеточной стенки могут образовываться в естественных условиях в процессе закаливания озимых растений. Наличие однотипной реакции у всех используемых образцов свидетельствует об отсутствии сортовой и видовой специфичности этих молекул.

Обсуждаются возможные механизмы действия олигосахаринов в процессе низкотемпературной адаптации растений.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ (грант 17-04-01539)

**Регуляция автофагии у растений при стрессовых воздействиях****Тютерева Е.В. \*, Рабаданова К.К. \*, Иванова А.Н. \*, Добрякова К.С. \*, Демидчик В.В.\*\*\*, Войцеховская О.В. \***

\*ФГБУН Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, ул. Профессора Попова, 2, 197376 Санкт-Петербург, Россия

\*Биологический факультет, Белорусский государственный университет, пр. Независимости 4, 220030, Минск, Беларусь  
[ovoitse@binran.ru](mailto:ovoitse@binran.ru)

Автофагия - катаболический путь деградации компонентов клетки в кислых литических компартментах. В растительных клетках автофагия индуцируется в ответ на углеродное и/или азотное голодание, а также при старении и различных видах стрессов, включая оксидативный, солевой и осмотический. Автофагия может выступать как цитопротекторным механизмом, способствующим выживанию клетки в неблагоприятных условиях, так и способствовать запуску в клетке программы клеточной смерти. Расшифровка организации и регуляции автофагической системы растительной клетки, в которую вовлекается несколько десятков белков, имеет фундаментальное значение для понимания процессов катаболизма, иммунитета, стрессоустойчивости и продуктивности высших растений. В данной работе исследовано влияние таких факторов как гипоосмотический стресс, солевой стресс, а также доступность калия в среде выращивания, на индукцию автофагии в корнях *Arabidopsis thaliana*. На другой модели – гетеротрофной суспензионной культуре клеток *Nicotiana tabacum* BY-2 - изучена роль пероксисомального фермента антиоксидантной защиты каталазы в процессах автофагии и клеточной гибели. Полученные данные позволяют предположить участие белка ATG8a в эндоцитозе, индуцируемом в клетках корня при переносе в гипоосмотическую среду. Частичное вовлечение клеточных структур, специфичных для автофагии, в процессы эндоцитоза необходимо учитывать при планировании экспериментов, направленных на изучение автофагии. Впервые показано, что снижение активности наружу-выпрямляющих  $K^+$ -каналов GORK у нокаутных линий *gork1-1* замедляет развитие автофагии при воздействии солевого стресса в корнях *A. thaliana*, и получены данные в пользу роли калия как модулятора автофагии в клетках растений. Продемонстрировано, что в клетках суспензионной культуры табака динамика пероксисомного пула каталазы и ее каталитическая активность связаны с запуском автофагии и клеточной гибелью. Установлено, что присутствие белка каталазы в пероксисомах необходимо для их автофагической деградации и служит триггером автофагического типа клеточной гибели в культуре табака. В целом результаты обнаруживают новые закономерности функционирования автофагического комплекса у высших растений. Исследования поддержаны РФ (грант №15-14-30008). Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Клеточные и молекулярные технологии изучения растений и грибов» Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН (Санкт-Петербург) и Ресурсного центра «Развитие молекулярных и клеточных технологий» СПбГУ.

## Брассиностероиды и иммунитет растений

Федина Е.О., Ярин А.Ю., Четкин И.Р.

ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Лобачевского ул., 2/31, Казань, Россия  
[solo\\_nika@mail.ru](mailto:solo_nika@mail.ru)

Растения выработали ряд защитных механизмов, в которых фитогормоны играют важную роль в защите от патогенов. Важная роль в формировании иммунной системы растений таких фитогормонов как салициловая кислота (СК), этилен (ЭТ) и жасмонаты (ЖК) хорошо установлена. Каждый из этих гормонов опосредует защитные сигналы, которые влияют друг на друга через сложную сеть синергических и антагонистических взаимодействий, позволяя растению эффективно адаптировать свои защитные реакции в зависимости от типа патогена. В настоящее время показано, что существенными регуляторами растительно-микробных взаимодействий могут быть другие фитогормоны, такие как АБК, брассиностероиды (БС), гибберелловая кислота (ГК), цитокинины и ауксины. Предлагается, что эти гормоны оказывают положительную или отрицательную роль в возникновении болезни и взаимодействуют с СА-ЖК-этилен сигнальной системой. Однако, их общий механизм действия не совсем понятен.

БС - группа стероидных гормонов растений, обладающая широким спектром физиологических ответов, начиная от прорастания семян, цветения и старения. Наряду с их важной ролью в регуляции развития растений, в последнее время показано их участие в защите растений на широкий спектр стрессоров, включающих температуру, засуху, засоление и насекомых. Было продемонстрировано, что экзогенная обработка биологически наиболее активным БС, брассинолидом (БЛ), повышает устойчивость растений табака к вирусу табачной мозаики, бактериальному возбудителю рода *Pseudomonas syringae*, грибковой инфекции *Oidium sp.*, а также к патогенам *Magnaporthe grisea* и *Xanthomonas oryzae* в растениях риса (Nakashita et al., 2003). Результаты полевых и тепличных опытов продемонстрировали защитные эффекты экзогенных БС к широкому спектру грибковых, вирусных и бактериальных патогенов (Bajguz & Najat, 2009). Однако определенные концентрации БС и их применение на определенных стадиях развития растений может стимулировать рост грибов и прогрессирование заболевания. Например, БС вызывают восприимчивость тканей клубней картофеля к *Phytophthora infestans*, стимулируя рост мицелия и интенсивность формирования спор бактерии.

Молекулярные изменения, связанные с БС-индуцированными защитными реакциями растений не отображают первичные ответы, исключительно связанные только с БС. Результаты исследований убедительно свидетельствуют, что механизм, с помощью которого БС вызывает чувствительность или устойчивость растения к возбудителю зависит от концентрации гормона и времени воздействия, и включает в себя активацию или подавление путей других гормонов. В целом вопросы взаимодействия и общего механизма гормонального пути БС, а также его роли в механизмах системной и локальной (очаговой) защиты остаются открытыми для дальнейшего изучения у растений.

В процессе совместной эволюции растений и окружающих их микробов на растительных мембранах выработались механизмы распознавания чужеродных организмов, запуска сигнальных систем, оповещающих растение об их присутствии, а также индукции синтеза антипатогенных метаболитов. Активация окислительной части метаболизма мембранных липидов приводит к образованию оксилипинов (продуктов липоксигеназного сигнального пути) и является одной из защитных стратегий растений при инфицировании патогенами. В последние годы в листьях ряда растений были обнаружены и охарактеризованы так называемые сложные оксилипины, то есть оксилипины, входящие в состав галактолипидов мембран хлоропластов – моногалактозилдиацилглицеринов (МГДГ) и дигалактозилдиацилглицеринов (ДГДГ). Например, в хлоропластах арабидопсиса были обнаружены арабидопсиды – вещества, характеризующиеся наличием 12-оксо-фитодиеновой кислоты / 1,2-динор-12-оксо-фитодиеновой кислоты в галактолипидах. Вероятно, что такие гликолипиды могут являться формой хранения оксилипинов [Nakashima et al., 2013].

Ранее в нашей лаборатории была обнаружена новая группа сложных оксилипинов льна – линолипины, у которых было установлено строение, исследованы пути их биосинтеза и катаболизма. Показано, что линолипины С и D представляют собой ДГДГ, а линолипины В и А – МГДГ, этерифицированные одним или двумя остатками ( $\omega$ 5Z)-этероленовой кислоты [Chechetkin et al., 2009; 2013]. Было также выявлено, что линолипины являются запасной формой соединений, обладающих антибактериальной активностью. В представленной работе было изучено влияние 24-эпибрассинолида (одного из биологически-активных представителей БС) на содержание и состав линолипинов листьев при инфицировании растений льна бактерией *Pectobacterium atrosepticum*. Полученные данные впервые выявили, что брассиностероиды могут участвовать в процессах формирования фитоиммунитета через регуляцию дивинилэфирсинтазного пути липоксигеназного каскада. Изменение содержания линолипинов при действии 24-эпибрассинолида может свидетельствовать о положительном влиянии стероидных фитогормонов на содержание и/или активность ферментов, катализирующих образование сложных оксилипинов при патогенезе растений.

Работа поддержана грантом РФФИ №16-04-01553.



**Разделение изоферментов сукцинатдегидрогеназы из щитков прорастающих семян кукурузы***Федорин Д.Н., Карабутова Л.А., Епринцев А.Т.*ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», Университетская пл., д.1., Воронеж, Россия  
[bc366@bio.vsu.ru](mailto:bc366@bio.vsu.ru)

Сукцинатдегидрогеназа (СДГ, КФ 1.3.99.1) представляет собой ферментативный комплекс, являющийся одновременно компонентом дыхательной цепи митохондрий и цикла трикарбоновых кислот и катализирующий трансэлиминирование двух атомов водорода от янтарной кислоты с образованием фумаровой кислоты. При этом обнаружено наличие четырех форм исследуемого фермента на начальных этапах развития растительного организма, участвующих в различных метаболических процессах клетки. Очень важную роль играет ЦТК при прорастании семян, когда клеткам необходимы вещества для их нормального развития. В семени кукурузы органом, где протекает основная масса процессов мобилизации запасных веществ, является щиток. Поскольку при развитии семян происходит смена типов питания с гетеротрофного на автотрофный, важную роль в адаптации к смене метаболизма, может играть СДГ-система, как один из участников метаболических процессов, поставляющих энергию и биосубстраты на стадии гетеротрофного типа питания. В последствии, на стадии формирования фотосинтетического аппарата, происходит смена типа питания на автотрофный.

В качестве объекта исследования использовали 2-дневные растения кукурузы (*Zea mays* L.), выращенные гидропонным способом при 12-часовом световом дне и интенсивности 25 Дж/м<sup>2</sup>. Активность фермента рассчитывали по падению оптической плотности среды при длине волны 600 нм в течение 3 мин при 25°C, обусловленному обесцвечиванием ДХФИФ в ходе его восстановления. За единицу ферментативной активности принимали количество фермента, образующего 1 мкмоль продукта за 1 мин при 25°C. Очистку фермента осуществляли в пять стадий при температуре 0-4°C.

В качестве определяющей стадии очистки осуществляли ионообменную хроматографию. Элюцию фермента в колонки осуществляли линейным градиентом хлорида калия от 50 до 200 мМ и содержанием сукцината в среде 20 мМ. Удельная активность для первой изоформы фермента (СДГ1) равнялась 0.12 Е/мг белка, при этом степень очистки составила 7,5 раз, выход – 16,026%. Для второй изоформы (СДГ2) значение удельной активности было 0.43 Е/мг белка, а степень очистки и выход – 26,88 раз и 69,72 %, соответственно. Для третьей изоформы (СДГ3) значение удельной активности было 0,053 Е/мг белка, а степень очистки и выход – 3,32 раз и 10,82 %, соответственно. Для четвертой изоформы (СДГ4) значение удельной активности было 0.17 Е/мг белка, а степень очистки и выход – 10,63 раз и 30,85 %, соответственно.

Электрофорез в 7,5% ПААГ с последующей окраской геля нитратом серебра показал гомогенность полученных ферментативных препаратов, о чём свидетельствует наличие только одной белковой полосы в каждой пробе. Полосы после специфического проявления на активность СДГ и окрашивания на белок совпадают и имеют соответственно Rf равное 0,21 для первой формы, Rf 0,27 для второй формы, Rf равное 0,32 для третьей и Rf 0,43 – для четвертой. Таким образом было установлено, что в щитке кукурузы присутствуют 4 формы фермента, поэтому можно утверждать, что полученные ферментативные препараты гомогенны.

Исследование зависимости активности фермента от рН среды показало, что СДГ1 активна в широком диапазоне значений рН. Установлено, что рН-оптимум для СДГ1 составил 8,0, при этом для изофермента СДГ2 определено сходное значение концентрации протонов, обеспечивающих максимальную активность исследуемого фермента. Значение рН составило также 8,0.

Определение величины константы Михаэлиса для изоферментов сукцинатдегидрогеназы из щитков кукурузы проводили по методу Лайнуивера-Берка в системе двойных обратных координат.

Для первой изоформы установлено, что величина К<sub>м</sub> соответствует 0,22 мкМ. Для второй изоформы величина данного показателя составила 5,22 мкМ, что выше, чем у первой формы. При этом установлено, что высокое значение величины К<sub>м</sub> наблюдалось и для третьей формы сукцинатдегидрогеназы из щитков кукурузы, К<sub>м</sub> составило 2,51 мкМ.

Таким образом, был разработан эффективный способ очистки СДГ из щитков кукурузы, включающий ионообменную хроматографию. В качестве определяющей стадии очистки осуществляли ионообменную хроматографию, позволившую получить четыре формы исследуемого фермента в высокоочищенном состоянии. Показано, что все формы СДГ десорбируются с ДЕАЕ-целлюлозы при разных концентрациях хлорида калия, что может указывать на различие в структурной организации полипептидных компонентов изоформ сукцинатдегидрогеназы.

Показано, что для всех четыре формы сукцинатдегидрогеназы рН-оптимум находится в щелочной области. Для изоферментов СДГ1 и СДГ2 данный показатель сходен и составляет величину 8,0, при этом для формы СДГ3 максимальное значение активности наблюдается при значении рН 7,0.

Сравнительный анализ полученных значений К<sub>м</sub> показывает, что наибольшее сродство к сукцинату характерно для фермента СДГ1 и СДГ4 из щитков кукурузы. Наименьшее значение сродства к субстрату характерно для форм СДГ2 и СДГ3.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (РНФ, грант №14-14-00721).

## **Особенности гормонального и ростового ответа на дефицит фосфора у мутанта AZ-34 с нарушенной регуляцией синтеза абсцизовой кислоты**

*Феоктистова А.В., Высоцкая Л.Б., Кудоярова Г.Р.*

Уфимский институт биологии РАН, пр. Октября, 69, Уфа, Россия  
[feoktistova.arisha@yandex.ru](mailto:feoktistova.arisha@yandex.ru)

Изменение роста и развития корневой системы обеспечивает адаптацию растений к доступности элементов минерального питания и воды. Например, при дефиците ресурсов активация роста корней повышает их способность к поглощению воды и ионов. Поскольку эта реакция очень важна для роста и продуктивности растений, она является объектом пристального изучения. Известно, что повышение при стрессе концентрации абсцизовой кислоты (АБК) тормозит рост побега, но может поддерживать рост корней, и этому гормону отводят важную роль в ростовой реакции растений на доступность ионов и воды. Поскольку АБК способна влиять на концентрацию гормонов цитокининов и ауксинов, ее влияние может реализоваться через взаимодействие с другими гормонами растений. Однако этому аспекту множественной гормональной регуляции уделяли недостаточно внимания.

Цель данной работы состояла в сравнении гормонального и ростового ответа на дефицит фосфатов у мутанта ячменя AZ-34, для которого характерно нарушение регуляции уровня АБК, и у растений его исходного генотипа Steptoe. Половину проростков помещали на питательную среду с полным набором макроэлементов (контроль), а вторую половину – на среду без фосфатов. Через сутки роста растений на этих средах брали образцы на анализ гормонов. Ростовую реакцию, которая проявляется позднее, регистрировали через 4 дня, измеряя общую длину всех корней, общее число боковых корней и массу побега. Количественное содержание цитокининов и ауксинов в очищенном экстракте определяли с помощью иммуноферментного анализа. Для того, чтобы выявить участие гормонов в изменении удлинения корней, была проведена иммуногистохимическая локализация гормонов в клетках кончиков корней, где происходит их рост.

Дефицит фосфатов активировал рост корней растений Steptoe, что проявлялось в достоверном увеличении длины корней на 10 % и количества боковых корней – на 20 % по сравнению с контролем. У растений AZ-34 такой активации роста корней не было зарегистрировано, и, вместо этого, наблюдалась тенденция подавления развития корневой системы. Иммунолокализация цитокининов в кончиках корней растений Steptoe показала более низкий уровень этих гормонов в корнях растений, испытывавших дефицит фосфатов. Поскольку известна способность этих гормонов тормозить удлинение корней, активацию их роста у растений этого генотипа можно объяснить снижением уровня цитокининов в кончике корней при дефиците фосфора. Отсутствие активации удлинения корней у растений AZ-34 также соответствовало результатам иммуногистохимической локализации цитокининов: уровень окрашивания на эти гормоны был одинаковым у дефицитных по фосфатам и контрольных растений. Суммарное содержание цитокининов во всей массе корней при этом было таким же, как в контроле, у растений обоих генотипов. Таким образом, снижение уровня этих гормонов в корнях дефицитных по фосфатам растений Steptoe, очевидно, было следствием перераспределения цитокининов между кончиком и остальной частью корня. Определение суммарного содержания ауксинов в корнях растений показало повышение их уровня под влиянием дефицита фосфатов у растений Steptoe, что соответствовало результатам иммуногистохимической локализации ауксинов. Эта гормональная реакция отсутствовала у растений AZ-34, у которых содержание ауксинов не менялось под влиянием дефицита фосфатов, как на уровне целых корней, так и в их кончике. Способность ауксинов активировать рост корней хорошо известна. Поэтому вызванное дефицитом фосфатов накопление ауксинов в корнях Steptoe, рост которых активировался при данном воздействии, свидетельствует о важной роли не только цитокининов, но и ауксинов в адаптивной реакции растений на снижение доступности этого макроэлемента.

Удаление фосфатов из питательной среды сопровождалось увеличением соотношения массы корня к массе побега у растений Steptoe за счет снижения скорости накопления массы побега и поддержания накопления массы корней. Эта ростовая реакция сопровождалась снижением уровня цитокининов в побегах растений. Поскольку известно, что понижение уровня цитокининов в побегах способствует перераспределению ассимилятов в корни, зарегистрированные нами изменения уровня цитокининов очевидно ответственны за перераспределение ресурсов в пользу корней растений Steptoe при дефиците P. У растений AZ-34 отсутствовали как снижение уровня цитокининов в побегах, так и изменение соотношения массы побега к массе корня под влиянием удаления P из среды.

Таким образом, отсутствие адаптивных изменений содержания ауксинов и цитокининов в корнях мутанта AZ-34 с нарушенной регуляцией уровня АБК указывает на важную роль последнего гормона в регуляции адаптивной реакции растений к дефициту фосфатов.

Работа выполнена при частичной поддержке гранта РФФИ 15-04-04750 и гранта Республики Башкортостан молодым ученым и молодежным научным коллективам (договор с АН РБ №18 от 11.05.2017).

## Цитогенетическая характеристика каллусной культуры *Aconitum septentrionale* Koelle.

Филонова М.В. \*, Пулькина С.В., Медведева Ю.В., Чуринов А.А. \*

НИ Томский государственный университет, пр. Ленина 36, Томск, 634050, Россия  
\*НИИ фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга, Томский НИМЦ РАН, пр. Ленина, 3,  
Томск, 634028, Россия  
[Maria-Caurus7@yandex.ru](mailto:Maria-Caurus7@yandex.ru)

Борец (аконит) северный (борец высокий, борец обыкновенный; лат. *Aconitum septentrionale* Koelle, *Aconitum excelsum* Rchb. и др.) травянистое растение семейства Лютиковые. Распространен в европейской части России, в Сибири, внесён в Красные книги нескольких регионов.

Борец северный богат дитерпеновыми алкалоидами, а так же содержит органические кислоты, проазулены, кумарины, флавоноиды и жирное масло. Используется в традиционной медицине Монголии, Тибета, Сибири и горного Алтая. На основе некоторых из дитерпеновых алкалоидов уже получены медицинские препараты, такие как антиаритмический препарат аллапинин.

На кафедре физиологии растений и биотехнологии ТГУ был разработан метод получения каллусной культуры борца северного, культивируемого на питательных средах MS и MS с добавлением активированного угля, обе среды содержат гормоны НУК и 6-БАП.

Вопрос о цитологической характеристике изолированных тканей вызывает интерес исследователей в связи с поиском стабильных штаммов по уровню вторичных метаболитов. Для цитологического исследования были взяты каллусные ткани 9 и 13 пассажей, длительного культивирования.

Цитогенетические исследования проводили на давленных ацетогематоксилиновых препаратах, анализируя для каждого пассажа не менее 100 метафаз.

При сопоставлении данных по исследуемому материалу оказалось, что каллусы из каждого пассажа, выращенные на средах MS и MS + уголь показали близкие результаты, поэтому в дальнейшем, обсуждение проводилось по обоим вариантам каждого пассажа одновременно.

По литературным данным, для данного вида отмечается стабильность растений в природных популяциях по числу хромосом. Встречаются диплоидные ( $2n=16$ ) и тетраплоидные ( $2n=32$ ) популяции растений. При использовании тетраплоидного исходного материала исследователям не удалось получить длительно культивируемый каллус. В нашем эксперименте при цитогенетическом исследовании каллусов 9 и 12 пассажей установлено, что преобладают клетки с диплоидным числом хромосом  $2n=16$ , составляющем 91,9-96,1%, соответственно. Реже встречаются клетки с тетраплоидным числом хромосом  $2n=32$  – 5,8-3,6%, соответственно. Уровень анеуплоидии в каллусных культурах обоих пассажей незначителен и составляет 2,3-0,3%, соответственно. Возможно, что сохранение диплоидного уровня при дальнейшем культивировании позволит создать адаптированную каллусную культуру с высоким уровнем синтеза вторичных метаболитов.

**Активность фотосинтетического аппарата хвои сосны при действии сернистого газа****Фомина И.Р.\*\*\*, Кособрюхов А.А.\***

\* Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Институтская ул., 2, Пущино, Московская обл., Россия

\*\* Biosphere Systems International Foundation, Tucson, Arizona 85755, USA

[irafomi@rambler.ru](mailto:irafomi@rambler.ru)

Подавление фотосинтеза является одной из ранних реакций растений на загрязненную сернистым газом ( $\text{SO}_2$ ) атмосферу. Для выяснения адаптивных возможностей фотосинтетического аппарата хвои сосны *Pinus silvestris* L. противостоять действию одного из основных токсикантов газодымовых выбросов промышленных предприятий, было проведено 2 серии экспериментов.

В первой серии однолетние ветви, срезанные с южной стороны кроны, после 4-х ч прединкубации при естественном освещении и температуре  $20^\circ\text{C}$  помещали в экспозиционные камеры, где создавали концентрации  $\text{SO}_2$ : 0 (контроль), 0.5, 5.0 and  $25.0 \text{ mg m}^{-3}$ . Экспозицию проводили в течение 4 ч при освещении ( $500 \text{ BT m}^{-2}$ ) или в темноте. Впервые было обнаружено, что в условиях освещения  $\text{SO}_2$  вызывает колебания фотосинтетического выделения  $\text{O}_2$ , затухающие в течение нескольких часов. Начальная амплитуда колебаний, длительность их затухания и величина достигаемого стабильного уровня параметра зависели от концентрации  $\text{SO}_2$ . При концентрации  $25.0 \text{ mg m}^{-3}$  начальная амплитуда колебаний выделения  $\text{O}_2$  была низкой, и колебания полностью прекращались в течение 4 ч, достигая стабильного уровня почти вдвое ниже контрольного. При концентрации  $0.5 \text{ mg m}^{-3}$  начальная амплитуда колебаний была высокой, и колебания не прекращались в течение 4 ч, стремясь к стабильному уровню выделения  $\text{O}_2$  значительно более высокому, чем в контроле. Такой адаптивный ответ наблюдался только в условиях освещения. Темновая экспозиция хвои к  $0.5 \text{ mg m}^{-3} \text{ SO}_2$  приводила к низкоамплитудным, быстро затухающим колебаниям фотосинтетического выделения  $\text{O}_2$ , и стабильный уровень этого параметра становился в два раза ниже, чем в контроле. Поскольку никто до нас не наблюдал колебательного адаптивного ответа фотохимической активности фотосинтетического аппарата растений в ответ на действие  $\text{SO}_2$ , параллельно с выделением  $\text{O}_2$  были измерены микрOLUMИнесцентные характеристики фототрофных тканей хвои, а именно, «X» – отношение  $I_{680}/I_{530}$  как показатель энергетического статуса фотосинтез/дыхание. Аналогично колебаниям выделения  $\text{O}_2$ , колебания «X» с высокой начальной амплитудой, затухающие и стремящиеся к новому стабильному уровню, значительно превышающему контроль, наблюдали при экспозиции к  $0.5 \text{ mg m}^{-3} \text{ SO}_2$  только в условиях освещения. При действии газа в темноте имели место низкоамплитудные затухающие колебания «X», и стабильный уровень «X» становился значительно ниже, чем контрольный.

Во второй серии экспериментов хвоинки веток помещали в камеру газометрической системы, где концентрация  $\text{CO}_2$  поддерживалась на естественном (0.036%) или повышенном (0.1%) уровнях. Концентрации  $\text{SO}_2$  в камере создавали: 0 (контроль), 0.5, 2.5 и  $5.0 \text{ mg m}^{-3}$ . Экспозицию проводили в течение 6 ч. Трехфазная картина изменений фотосинтетического поглощения  $\text{CO}_2$ , описанная в литературе на древесных породах, т.е. фактически единичная волна – торможение (фаза 1), активация (фаза 2) и глубокое подавление (фаза 3), наблюдалась в присутствии  $\text{SO}_2$ . При этом амплитуда и длительность каждой фазы зависели не только от концентрации токсиканта, но и концентрации  $\text{CO}_2$  в атмосфере. При повышенной концентрации  $\text{CO}_2$  негативное влияние  $\text{SO}_2$  на фотосинтетический аппарат уменьшалось. Снижалось торможение фотосинтеза в фазе 1 (вплоть до полного элиминирования данной фазы), происходила более высокая и продолжительная активация фотосинтеза в фазе 2 и, наконец, – его менее глубокое подавление в фазе 3.

Таким образом, низкие концентрации  $\text{SO}_2$ , около  $0.5 \text{ mg m}^{-3}$ , не только не подавляют фотосинтетическое выделение  $\text{O}_2$  хвоей сосны, но даже индуцируют происходящую в колебательном режиме активацию данного процесса, если токсикант действует на свету. Этот результат, тем не менее, не может служить основанием для рекомендации промышленным предприятиям производить газодымовые выбросы в дневное время, поскольку сернистый газ легче проникает в фотосинтезирующие органы растений днем, когда устьица открыты, а в загрязненном воздухе вблизи заводов его концентрация, как правило, значительно выше, чем  $0.5 \text{ mg m}^{-3}$ .

Ожидаемое в будущем удвоение концентрации  $\text{CO}_2$  в атмосфере нашей планеты, вероятно, приведет к увеличению активности фотосинтетического аппарата растений и повышению их стресс-устойчивости. В частности, увеличение концентрации  $\text{CO}_2$  уменьшит негативное воздействие промышленных выбросов на фотосинтез и продукционные характеристики хвойных пород. Механизм стресс-защитного действия повышенной концентрации  $\text{CO}_2$  связан, скорее всего, с повышением устьичного сопротивления, препятствующего поступлению  $\text{SO}_2$  в апопласт.

**Влияние регулятора роста Эпин-экстра на процесс прорастания семян, рост и развитие сеянцев***Фурсова А.И., Кучер Е.Н., Теплицкая Л.М.*

Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского, Вернадского проспект, 4, Симферополь, Крым, Россия

В сельском хозяйстве Крыма ячмень – одна из наиболее широко возделываемых зерновых культур. Однако, на ранних этапах онтогенеза этот злак в значительной степени чувствителен к перепадам температуры, недостатку влаги и другим неблагоприятным факторам.

К современным способам решения проблем зависимости количественных и качественных характеристик урожая сельскохозяйственных культур от воздействия неблагоприятных погодных условий является применение природных и синтетических регуляторов роста.

Эпин-экстра - комплексный биологически активный препарат, экологически чистый и безопасный для человека и животных. Действующим веществом в нем служит 24-эпибрассинолид, который, активизируя фитогормоны, влияет на физиологические процессы и повышает устойчивость растений.

Начальные этапы онтогенеза являются определяющими в процессах роста, развития растений и, наконец, в формировании урожая. В настоящее время в литературных источниках данных о воздействии эпибрассинолидов на особенности роста и развития ячменя обыкновенного на ранних этапах, еще незначительно.

В связи с вышесказанным, целью нашей работы являлось изучение влияния препарата Эпин-экстра на начальные этапы развития ячменя (*Hordeum vulgare* L. CV<sup>1</sup> Гелиос УА, Восход). Семена обрабатывали в 1% растворе  $KMnO_4$  в течение 15 минут, затем промывали дистиллированной водой и замачивали в растворах регулятора роста в концентрациях: 0,075; 0,05; 0,025 и 0,013 мг/л. Время экспозиции для сорта Гелиос УА составило 4, 8 и 12 часов, для сорта Восход – 4 часа. Контролем служили семена, предварительно замоченные в отстоянной водопроводной воде. Семена проращивали в термостате при температуре +20°C. Энергия прорастания и всхожесть семян определялись согласно ГОСТ 12038-84. В дальнейшем растения выращивали на водной культуре (среда Кнопа) в вегетационных сосудах емкостью 1л при естественном освещении и температуре +24-+25°C. Все морфометрические измерения проводили по общепринятым методикам в динамике на 7-е, 14-е и 21-е сутки. Определялись линейные размеры побега, корневой системы, площадь листовой поверхности.

В результате проведенных исследований было установлено, что предпосевное замачивание семян в растворах Эпин-экстра повышало энергию прорастания и лабораторную всхожесть семян обоих сортов ячменя, а также оказывало стимулирующее действие на развитие сеянцев. Отмечена сортоспецифичность во влиянии использованных концентраций регулятора роста на процессы прорастания и дальнейшего роста растений. Наиболее эффективной по влиянию на изучаемые показатели проростков сорта Гелиос УА являлась предпосевная обработка раствором препарата концентрацией 0,025 мг/л в течение 4 часов, а сорта Восход - 0,05 мг/л. Энергия прорастания под действием препарата увеличилась по сравнению с контролем на 16,0% и 17,4% соответственно, а всхожесть – на 25,1% и 14,7%.

Длина корневой системы у опытных растений сорта Гелиос УА на 7-е, 14-е и 21-е сутки превышала значения у контрольных особей на 36,1%, 23,3% и 28,8% соответственно. Высота побега и площадь листовой поверхности на 14-е сутки развития увеличились 22,3% и 23,4%.

Длина корневой системы растений ячменя сорта Восход увеличилась по сравнению с контрольной группой растений на 7-е сутки (15,8%), на 14-е и 21-е сутки – (40,5%) 24,2%. Показатели высоты побега на 21-е сутки увеличилась на 19,8%, а площадь листовой поверхности превысила контроль на 12,6%.

## Характеристика симбиотических мутантов гороха посевного (*Pisum sativum* L.) с нарушениями процесса колонизации корней арбускулярно-микоризными грибами и клубеньковыми бактериями

Хайруллина М.М. \*\*, Штарк О.Ю. \*\*\*, Китаева А.Б. \*, Жернаков А.И. \*, Кулаева О.А. \*, Клюкова М.С. \*\*\*,  
Афонин А.М. \*, Ахтемова Г.А. \*, Сулима А.С. \*, Тиходеев О.Н. \*\*, Тихонович И.А. \*\*\*, Жуков В.А. \*

\* Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, ш. Подбельского, д. 3, г. Пушкин, Санкт-Петербург, Россия

\*\* Биологический факультет Санкт-Петербургского государственного университета, Университетская наб., д. 7-9, Санкт-Петербург, Россия  
[x.mania2012@yandex.ru](mailto:x.mania2012@yandex.ru)

Работа посвящена изучению роли генов гороха посевного (*Pisum sativum* L.) *Sym11* и *Sym36* в колонизации корней арбускулярно-микоризными (АМ) грибами и клубеньковыми бактериями (КБ). Объектами исследования служили мутанты гороха *sym36-2* (RisNod24), *sym36-1* (RisNod26) и исходная линия Finale, а также мутант *sym11* (N24) и исходная линия Sparkle. Все исследуемые мутанты не способны к образованию азотфиксирующих клубеньков. Для инокуляции использовали изолят АМ гриба *Rhizophagus irregularis* BEG144 и штамм КБ *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*. RCAM1026gusA.

Анализ развития инфекции (колонизации) корней КБ и АМ грибом проведен с использованием световой и конфокальной микроскопии. Мутант *sym11* впервые охарактеризован в отношении формирования арбускулярной микоризы (АМ) и развития инфекции КБ, а мутант *sym36-1* – в отношении развития АМ. Все мутанты отличались гипертрофией экстрарадикального мицелия АМ гриба, по сравнению с исходными линиями. У мутанта *sym11* выявлены нарушения проникновения КБ и АМ гриба в клетки ризодермиса. Продемонстрировано, что у обоих мутантов по гену *Sym36* нарушен процесс проникновения АМ гриба через ризодермис, и образуются недоразвитые арбускулы. Количественный анализ развития АМ показал, что мутант *sym36-1* проявляет более строгий мутантный фенотип, чем *sym36-2*.

Проведена проверка гипотезы о том, что ген гороха *Sym36* является ортологом гена *Medicago truncatula* *VAPYRIN* (*VPY*), кодирующего белок, который взаимодействует и частично ко-локализуется с белком, участвующим в построении периабускулярной мембраны. Результаты, полученные в ходе фенотипического и косегрегационного анализа, а также анализа синтении генов *Sym36* и *VPY* и компьютерного моделирования 3D структуры белка PsVAPYRIN, проведенных в данной работе, подтверждают гипотезу о гомологии генов *Sym36* и *VPY*.

С использованием количественной ПЦП проведен анализ влияния инокуляции КБ или АМ грибом на экспрессию различных симбиотических генов в корнях мутанта *sym11* и линии Sparkle. Экспрессия гена *NSP1* (*Nodulation Signaling Pathway 1*), важного для начальных этапов формирования клубеньков и АМ, не зависела ни от инокуляции, ни от наличия мутации в гене *Sym11*. В то же время мутация приводила к снижению экспрессии гена *VAPYRIN* в корнях, инокулированных КБ, но не оказывала существенного влияния на его экспрессию при микоризации. Это может свидетельствовать о том, что ген *VAPYRIN* играет различные роли в колонизации корней АМ грибами и КБ. Экспрессия гена *RPG* (*Rhizobial Polar Growth*), специфичного для симбиоза с КБ, наблюдалась только в корнях исходной линии, инокулированных КБ. Следовательно, ген *Sym11* может участвовать в сигнальном пути, регулирующем функционирование гена *RPG* у гороха.

Результаты данной работы вносят вклад в понимание механизмов формирования и функционирования АМ и азотфиксирующих клубеньков, а именно расширяют понятия о процессах колонизации корней гороха микросимбионтами.

Исследование поддержано грантами РФФИ (16-04-01859) и РНФ (16-16-00118).

## Адгезин RapA1 бактерий *Rhizobium leguminosarum* в биоинженерии микробно-растительных симбиозов

Хакимова Л.Р., Лавина А.М., Вершинина З.Р., Баймиев Ал.Х.

ФГБУН Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия  
[lili-nigmatullina@bk.ru](mailto:lili-nigmatullina@bk.ru)

Прикрепление ризобактерий к корневым волоскам растений является определяющим этапом на ранних стадиях формирования бобово-ризобиального симбиоза. Первый этап адгезии является слабым и обратимым, в нем участвуют бактериальные поверхностные полисахариды, растительные лектины и адгезины, в том числе  $Ca^{2+}$ -связывающие белки. К таким белкам относится адгезин RapA1, имеющий сходство с рикадгезинами. Было доказано, что RapA1 является  $Ca^{2+}$ -связывающим белком, выделенным из *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*. Кроме того, показано, что повышенная конститутивная экспрессия гена *rapA1* влияет на конкурентоспособность штаммов ризобий *R. leguminosarum*, увеличивает адсорбционную способность их клеток к корневым волоскам растений. Результаты данных экспериментальных работ явились предпосылкой для использования белка RapA1 в качестве инструмента для создания новых симбиотических ассоциаций между клубеньковыми бактериями и растениями.

Целью данной работы было изучение возможности использования бактериального адгезина RapA1 *Rhizobium leguminosarum* в качестве инструмента для создания искусственных симбиотических систем культурных растений с PGPR-микроорганизмами.

В результате были получены штаммы ризобий *Rhizobium leguminosarum* (TPr4, PVu5) с повышенной продукцией данного белка, а также *E. coli*, продуцирующие RapA1 *de novo*. Показана способность полученных рекомбинантных штаммов к повышенной агглютинации, при этом для агрегации ризобий достаточно было наработки адгезина RapA1 в сокультивируемом штамме микроорганизмов. Также было обнаружено положительное влияние повышенной выработки белка RapA1 в ризобиях *Rhizobium leguminosarum* PVu5 на образование клубеньков и ростовые параметры растений фасоли. При обработке растений фасоли исходным (*R. leguminosarum* PVu5) и рекомбинантным штаммом ризобий (*R. leguminosarum* PVu5+RapA1) через месяц после закладки опыта были проведены замеры всех перечисленных показателей. У необработанных контрольных растений фасоли клубеньки отсутствовали (в качестве контроля брали растения, необработанные бактериями). Во всех остальных вариантах опытов клубеньки на корнях формировались, но их количество у растений фасоли, обработанных штаммом *R. leguminosarum* PVu5+RapA1, было примерно в 2 раза больше, чем у растений, инокулированных исходным штаммом *R. leguminosarum* PVu5. Кроме того, контрольные растения развивались медленнее опытных. Опытные растения, обработанные штаммом *R. leguminosarum* PVu5, достигали фазы цветения раньше, а растения фасоли, обработанные рекомбинантными ризобиями *R. leguminosarum* PVu5+RapA1, имели большее количество бутонов и биомассу. Полученные нами данные показывают, что обработка растений штаммами *R. leguminosarum* с повышенной экспрессией RapA1 увеличивает количество клубеньков и, соответственно, нитрогеназную активность, что, возможно, связано с лучшей адсорбцией ризобий на поверхности корней на начальных этапах симбиоза. Несомненно, улучшение ростовых параметров, сырой и сухой биомассы связано с улучшением азотного питания растений.

Таким образом, возможно использование бактериального адгезина RapA1 *R. leguminosarum* в качестве инструмента для улучшения эффективности формирования существующих симбиотических систем, что было показано на фасоли. Полученные результаты подтверждают, что белок RapA1 принимает участие в процессах узнавания и прикрепления бактерий к корням растений, однако данное взаимодействие не является строго избирательным и специфичным, что делает исследуемый адгезин достаточно лабильным инструментом для формирования новых симбиотических систем.

Работа поддержана грантами РФФИ-Инициативный № 16-04-00902 А; РФФИ мол\_а №16-34-01076.

**Ростостимулирующие бактерии для экологически ориентированного растениеводства**

*Хакимова Л.Р.\**, *Сербаева Э.Р.\*\**, *Лавина А.М.\**, *Вершинина З.Р.\**, *Баймиев Ал.Х.\**

\*ФГБУН Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия

\*\*ФГБОУВО Башкирский государственный университет, Уфа, Россия

[lili-nigmatullina@bk.ru](mailto:lili-nigmatullina@bk.ru)

Актуальность проблемы экологически ориентированного растениеводства возрастает в связи с резким снижением производства азотных удобрений, с одной стороны, и, с другой, — выявлением неблагоприятных экологических последствий высоких доз их применения: ухудшение свойств почвы, загрязнение окружающей среды, снижение качества сельскохозяйственной продукции в связи с накоплением в ней вредных для организма человека и животных повышенных концентраций нитратов. Много негативных последствий имеет и такой процесс как применение пестицидов при выращивании растений. Поэтому необходимы альтернативные, экологически безопасные средства повышения плодородия почвы и защиты растений от фитопатогенных грибов и бактерий. В этом плане огромный интерес представляют биопрепараты на основе ризобактерий. Обработка семян бобовых культур прочно вошла в мировую сельскохозяйственную практику. Многие страны производят препараты, основой которых являются активные штаммы ризобий. Кроме того, в качестве составляющих биоудобрений можно использовать бактерии рода *Pseudomonas*, входящие в группу PGPR. На их основе уже созданы бактериальные препараты, которые используются для защиты культурных растений от фитопатогенов и стимуляции их роста, защиты от заморозков и различных болезней.

Целью данной работы являлось определение ростостимулирующей активности штамма *R. leguminosarum* PVu5 на растениях огурца и физалиса и *Pseudomonas* sp. штаммов 102 и 103 на растениях томата и тыквы.

Для оценки способности штамма *R. leguminosarum* PVu5 к ростостимуляции были обработаны семена огурца суспензией ризобий, при этом среднее значение длины корней увеличилось в 2,5 раза по сравнению с контролем. В случае обработки семян физалиса исследуемым штаммом бактерий среднее значение длины корней превосходило контроль в 1,5 раза. Было определено, что длина корней опытных растений огурца и физалиса, при обработке их исследуемым штаммом не зависит от концентрации бактериальной суспензии.

В ходе исследования *Pseudomonas* sp. штаммов 102 и 103 к ростостимуляции корней растений томата и тыквы, было обнаружено: для томата среднее значение длины корня для штамма *Pseudomonas* sp. 102 превышало показатель контрольных растений примерно в 2 раза, для штамма *Pseudomonas* sp. 103 – в 2,5 раза, вне зависимости от концентрации инокулята. В случае тыквы при обработке растений штаммом *Pseudomonas* sp. 102 в концентрации  $10^5$  КОЕ/мл средняя длина корня была почти в два раза больше, чем у контрольных растений, у растений обработанных бактериями, в концентрации  $10^7$  КОЕ/мл, длина корней было больше уже в 2,5 раза. Штамм *Pseudomonas* sp. 103 заметного влияния на рост корней тыквы не оказал.

В ходе исследований выяснилось, что обработка растений огурца штаммом *R. leguminosarum* PVu5 приводит к увеличению биомассы по сравнению с контролем в 2 раза, в случае физалиса – в 1,5 раза, при 100% выживаемости растений. При обработке томата исследуемыми штаммами *Pseudomonas* sp. приводит увеличению биомассы по сравнению с контролем в случае штамма 102 – в 1,7 раз, штамма 103 – в 1,5 раза, при 100% выживаемости растений. Штамм *Pseudomonas* sp. 102 способствовал увеличению биомассы тыквы по сравнению с контрольными растениями в 1,8 раз, штамм *Pseudomonas* sp. 103 на биомассу тыквы влияние не оказывал. Выживаемость растений составила соответственно 100% и 90%.

Исходя из данных, можно сделать вывод, что данные штаммы можно использовать в качестве биоудобрений для улучшения роста растений. Выявлено, что действие штамма *Pseudomonas* sp. 103 в значительной степени зависит от вида испытываемого растения, тогда как штамм *Pseudomonas* sp. 102 оказывал одинаково положительное влияние и на растения томата и тыквы.

Работа поддержана грантами РФФИ-Инициативный № 16-04-00902 А; РФФИ мол\_а №16-34-01076.



## Стабильность содержания стероидных гликозидов в биомассе суспензионной культуры клеток *Dioscorea deltoidea* Wall. при поддержании в растущей коллекции и в криобанке

Ханды М.Т. \*, Урманцева В.В. \*\*, Волкова Л.А. \*\*, Кочкин Д.В. \*\*\*\*\*, Носов А.М. \*\*\*\*\*

\*Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова, Кулаковского, 46, Якутск, Россия

\*\* Институт физиологии растений имени К.А. Тимирязева РАН. Ботаническая ул., 35, Москва, Россия

\*\*\*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова. Ленинские горы, 1, Москва, Россия

[handy\\_89@mail.ru](mailto:handy_89@mail.ru)

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 фураностанолового ряда (протодиосцин и дельтозид и их S-изомеры). При этом содержание фураностаноловых гликозидов в разных линиях может варьировать более чем в 2 раза в зависимости от года сбора материала. Наиболее кардинально решить вопрос о стабильности биосинтетических характеристик штаммов позволяет метод криоконсервации (хранение штаммов при температуре жидкого азота).

Штамм ИФР ДМ-0,5 впервые был помещен в криобанк ИФР РАН в 1982 году, повторно этот коллекционный штамм был помещен в криохранилище в 1989 году. Сопоставление восстановленной из криобанка суспензионной культуры клеток с постоянно растущей в коллекции дает возможность корректно оценить изменения, произошедшие со штаммом при длительном выращивании в пересадочной культуре.

Исходя из вышесказанного целью работы было сопоставление ростовых и биосинтетических характеристик коллекционной линии штамма ИФР-ДМ-0,5, восстановленной после хранения в жидком азоте (закладка 1989 года) и растущей в пересадочной коллекции. Для этого исследовали динамику роста и накопления ФГ в 14-м цикле выращивания культуры клеток *D. deltoidea* коллекционной линии штамма ИФР-ДМ-0,5 после восстановления из криоконсервации и поддержания в пересадочной культуре.

В качестве объекта исследования использовали суспензионную культуру клеток *D. deltoidea*, штамм ИФР-ДМ-0,5. Суспензионную культуру выращивали на модифицированной среде MS с добавлением 2,4-Д и кинетина при температуре  $26 \pm 0,5^\circ\text{C}$ . Рост и физиологическое состояние культуры характеризовали, определяя сырую и сухую массу, а также жизнеспособность клеток. Качественное и количественное содержание фураностаноловых гликозидов в сухой биомассе определяли методом ВЭЖХ. Элюирование осуществляли в изократическом режиме при соотношении ацетонитрил : вода (24 : 76, по объему). Количественное содержание S- и R-изомеров дельтозида и протодиосцина определяли по стандарту R-протодиосцина чистотой 98 %.

Анализ результатов показывает идентичность ростовых характеристик и жизнеспособности клеток (выше 80%) до начала стационарной фазы при поддержании ее как в растущей коллекции, так и в криобанке.

Анализ содержания стероидных гликозидов в цикле выращивания штамма ИФР-ДМ-0,5К после криоконсервации и при поддержании его в пересадочной культуре показывают повышение накопления (25S)-форм дельтозида и протодиосцина сопряжено с периодом активного роста культуры клеток. Более высокое содержание суммы фураностаноловых гликозидов (ФГ) в восстановленной культуре клеток, по сравнению с выращиваемой в пересадочной коллекции, также свидетельствует о зависимости этого показателя от условий культивирования, т.е. количественное содержание фураностаноловых гликозидов не является строго штаммоспецифичным признаком.

Для установления закономерностей образования (25S)- и (25R)-форм гликозидов было проведено сопоставление их содержания в биомассе, собранной на стационарной фазе роста (16-е сутки) как при длительном культивировании в пересадочной коллекции, так и после хранения в криобанке. Полученные результаты свидетельствуют, что соотношение содержания 25-R-форм ФГ к содержанию их 25-S-изомеров в коллекционной линии в 1982 году составляет 22:1, в 1987 году – 7:1, а к 2015 году снижается до 2:1. Для линии 2У в момент получения соотношение R : S составляло 13:1, затем снизилось до 3:1 - 4:1. Кроме того, восстановленная после длительного криохранения культура клеток коллекционного штамма, которая была заложена в криобанк в 1989 году, по содержанию ФГ незначительно отличается от коллекционной линии, однако содержит преимущественно (25R)-соединения, что подтверждает повышение накопления (25S)-соединений при длительном культивировании. Важно, что соотношение (25R)- : (25S)-изомеров ФГ у восстановленной линии практически идентично по отношению к культуре клеток штамма ИФР-ДМ-0,5, собранной в конце 90-х годов. Это подтверждает, что криосохранение является наиболее надежным способом хранения штаммов культур клеток и что свойства восстановленных культур клеток практически идентичны культурам, помещаемым в криобанк.

Полученные результаты подтверждают ранее сделанные предположения, что (25S)-форма фураностаноловых гликозидов в большей степени способствует пролиферации клеток, чем (25R)-форма, и при длительном культивировании происходит автоселекция клеток *in vitro* по способности к накоплению (25S)-форм дельтозида и протодиосцина.

## Действие низкой температуры и кадмия на фотодыхание растений пшеницы

*Холопцева Е.С., Таланова В.В.*

Институт биологии КарНЦ РАН, 185910, Пушкинская, 11, г. Петрозаводск, Россия  
[holoptseva@krc.karelia.ru](mailto:holoptseva@krc.karelia.ru)

Роль фотодыхания в метаболизме растений и их реакции на воздействие неблагоприятных факторов среды различной природы в настоящее время изучена недостаточно. В связи с этим, целью нашей работы явилось исследование динамики интенсивности фотодыхания у растений пшеницы при действии низкой температуры (физический фактор) и кадмия (химический фактор), а так же их совместном действии.

Опыты проводили с проростками озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Московская 39, выращенными в факторостатных условиях: температура воздуха 22°C, его относительная влажность 60–70%, освещенность 10 клк, фотопериод 14 ч. По достижении недельного возраста проростки в течение 7 сут подвергали действию низкой закалывающей температуры (4°C) или сульфата кадмия (100 мкМ), а также их совместному действию. Интенсивность фотодыхания (ФД), устьичную проводимость (УП), парциальное давление CO<sub>2</sub> в межклетниках (Pci) исследовали с использованием портативной системы HSM-1000 (Walz, Германия).

Установлено, что воздействие температуры 4°C уже в первые часы вызывает значительное снижение УП и Pci (до уровня 50% от контроля), которое в дальнейшем сохраняется на протяжении всего эксперимента. Интенсивность ФД в первые 5 ч действия низкой температуры снижается в 2 раза, однако в дальнейшем (через 1–3 сут) происходит ее восстановление до исходного уровня, а через 4–7 сут – некоторое ее повышение. Кадмий в первые часы воздействия практически не влияет на УП и Pci, но через 4–7 сут вызывает снижение УП (на 30%) и Pci (на 20%). При этом значительных изменений ФД не происходит. Проявление негативного влияния металла в используемой концентрации лишь на 3–7 сут воздействия связано со способностью растений пшеницы задерживать кадмий в корневой системе, в результате чего в первые 1–3 сут его концентрация в листьях не достигала токсического уровня. При совместном действии низкой температуры и кадмия в первые часы (1–24 ч) происходит снижение показателей ФД, УП и Pci, но в дальнейшем (через 4–7 сут) интенсивность ФД возвращается к исходному уровню.

Таким образом, результаты исследования показали, что при раздельном и совместном действии низкой положительной температуры и кадмия в листьях растений пшеницы происходят изменения в проводимости устьиц, которые регулируют поступление CO<sub>2</sub> в межклеточное пространство. Это оказывает влияние на интенсивность процесса фотодыхания, которая претерпевает значительные изменения как в условиях низкотемпературного стресса, так и совместного действия низкой температуры и кадмия.

## Гибридизация и размножение тропических орхидей в Сибирском ботаническом саду ТГУ

Хоцкова Л.В.

Национальный исследовательский Томский государственный университет, Сибирский ботанический сад, просп. Ленина, 36, Томск, Россия  
[lyubava77kh@gmail.com](mailto:lyubava77kh@gmail.com)

В Сибирском ботаническом саду Национального исследовательского Томского государственного университета (СибБС НИ ТГУ) на современном методическом уровне ведутся исследования адаптационных особенностей и репродуктивного потенциала тропических орхидей (семейство *Orchidaceae* Juss.) при их выращивании в защищенном грунте. Наше внимание привлекли крупноцветковые виды и садовые гибриды родов *Phalaenopsis* Blume и *Dendrobium* Sw., выращиваемые в качестве высокодекоративной горшечной и срезочной культуры и представляющие интерес для селекционной работы. Целью нашей работы явилось изучение особенностей репродуктивной биологии, разработка методик ускоренного воспроизводства высокодекоративных тропических орхидей *Phalaenopsis hybridum*, *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume и *Dendrobium bigibbum* Lindl. var. *superbum* и получение массового посадочного материала для внедрения в культуру цветоводства защищенного грунта Сибирского региона. Наши наблюдения за адаптационными способностями орхидей в защищенном грунте, выражающимися в биоритмах сезонного развития, показали, что *P. amabilis*, садовые гибриды *P. hybridum*, *D. bigibbum* var. *superbum* в условиях СибБС цветут преимущественно в осенне-зимний и зимне-весенний период года. Продолжительность цветения одного цветоноса *P. amabilis* или *P. hybridum* колеблется от 50 до 70 дней, а период цветения одного цветоноса *D. bigibbum* var. *superbum* длится 30–40 дней. Применение методики искусственного опыления цветков позволило получить семена данных видов орхидей. После стерилизации семена высевали на агаризованные безгормональные питательные среды по прописи Мурасиге-Скуга и Кнудсона, содержащие активированный уголь для адсорбции метаболитов, загрязняющих питательную среду. Культуры содержались на белом свете люминесцентных ламп PHILIPS TLD 18/33-640 (18W, G13) с интенсивностью освещения 3 клк, температурой воздуха 23±2°C и влажность воздуха 65–70%. В результате проведенных исследований нами установлено, что у межсортовых гибридов *Phalaenopsis* или *D. bigibbum* var. *superbum* всхожесть семян колеблется от низкой (0–10% от общего количества посеянных семян) до высокой (80–95%) и зависит от комбинации скрещивания: выше при гейтоногамном скрещивании, чем при автогамном скрещивании, и наиболее высокая – при ксеногамном скрещивании. Прорастание семян у видов и культиваров *Phalaenopsis* происходило в период с 10 по 33 день после посева, у культиваров *D. bigibbum* var. *superbum* – с 20 по 35 день – практически одновременно на обеих питательных средах. Через 250–270 дней после посева семян молодые растения *Phalaenopsis* были полностью сформированы, имели хорошо развитые 3–4 листа и 2–3 корешка и были готовы к пересадке из стерильных условий в промежуточный субстрат. Проростки *D. bigibbum* var. *superbum* были готовы к высадке *ex vitro* через 290–320 дней после посева семян и имели хорошо развитую корневую систему и побеги с 5–7 листочками. Адаптация сеянцев *Phalaenopsis* и *Dendrobium ex vitro* в промежуточном субстрате сопровождалась внешними изменениями проростков: листовые пластинки становились более толстыми, мясистыми, приобретали характерную для данных видов форму и окраску. У проростков *P. hybridum* розетка листьев становилась уплощенной, а проростки *D. bigibbum* var. *superbum* претерпевали изменения по типу роста побега – от моноподиального, наблюдающегося в условиях *in vitro*, до характерного для данного вида симподиального типа роста побега. Успешную адаптацию и акклиматизацию к условиям теплицы прошли 92,5% сеянцев фаленопсисов и 68,9% сеянцев дендробиума двугорбого. Нами установлено, что в условиях СибБС сеянцы *D. bigibbum* var. *superbum* лучше приживаются в промежуточном субстрате, если дочерние побеги (второго и далее порядков) не отделять от побега первого порядка и выращивать их группами. Зацвели молодые растения и *Phalaenopsis* и *D. bigibbum* var. *superbum* поколения F1 в условиях теплицы СибБС НИ ТГУ на 3-5 год после высадки из стерильных условий. Нами отмечено, что в результате искусственного автогамного опыления в поколении F1 *Phalaenopsis* 'Spider Beauty' среди всех цветущих экземпляров проявилось единообразие окрасок цветков с отличием по интенсивности проявления сетчатого рисунка. Сетчатый рисунок на сепалиях и петалиях цветков имел неоднородную интенсивность окраски – от слабо проявившегося рисунка в виде ярко-розовых точек на белом фоне до практически сливающегося в единый ярко-розовый фон. Гибридизация ♀ *Phalaenopsis amabilis* × ♂ *Phalaenopsis* 'Pink Stripe', а также ♀ *D. bigibbum* var. *superbum* «белый» × ♂ *D. bigibbum* var. *superbum* «розовый» методом искусственного ксеногамного опыления привела к проявлению в поколении F1 разнообразия окрасок околоцветников, как повторяющих одну из родительских окрасок цветка: и том, и в другом случае – чаще «отцовскую», чем «материнскую», так и совершенно новых, занимающих промежуточное положение между окрасками и формами цветков родительских экземпляров. В результате проведенных экспериментов для производственных испытаний в оранжерейный комплекс СибБС передано 200 опытных растений *Phalaenopsis hybridum* и 50 экземпляров *D. bigibbum* var. *superbum*. Таким образом, гибридизация методом искусственного опыления как способ создания новых гибридных форм и семенное размножение *in vitro* как способ получения массового посадочного материала являются эффективными путями совершенствования сортимента тропических орхидей.

## **Анатомическая и биохимическая характеристика разных видов клевера (*Trifolium L.*), произрастающих в условиях поймы и водораздела**

*Хрянин В.Н., Крашенинников В.Н.*

Пензенский Государственный университет. Красная, 40, Пенза, Россия  
[viktor.khryanin@gmail.com](mailto:viktor.khryanin@gmail.com)

Растения семейства бобовых, ввиду способности вступать в симбиотические взаимоотношения с азотфиксирующими бактериями представляют особый интерес для исследователей. Для работы были взяты 4 вида клевера (к.) наиболее распространенных в Пензенской области: к. луговой, к. ползучий, к. альпийский, к. горный с двух участков – поймы реки с достаточным количеством влаги и водораздела в условиях относительного дефицита влаги. Во-первых, было выявлено, что для более влаголюбивых видов (к.ползучий и к. луговой) характерно большее количество проводящих пучков, а также более рыхлое их расположение. Промежуточное положение занимает к. альпийский, являющийся менее влаголюбивым видом. Наиболее засухоустойчивый является к. горный. Для них характерно меньшее количество проводящих пучков, а также тесное их расположение, наличие толстой кутикулы и многочисленных трихом. Определяя содержание пролина в растениях (Bates et al., 1973), мы могли судить об адаптации и устойчивости данных видов к дефициту влаги. Результаты содержания пролина в листьях клевера, взятых с водораздела, было в 2-5 больше, чем у растений с поймы. Содержание пролина было значительно выше в листьях к. горного (4,95-6,27 мкмоль/г сыр.веса) и к.альпийского (3,0-8,16 мкмоль/г сыр.веса), чем в листьях к. ползучего (1,80-2,17 мкмоль/г сыр.веса) и к. лугового (1,46-1,67 мкмоль/г сыр.веса). Исходя из этого, можно говорить о большей устойчивости к недостатку влаги к. горного и к. альпийского. Это подтверждается и вышеприведенными результатами анатомических особенностей изучаемых видов. Известно, что леггемоглобины (Лг) выполняют функцию переноса кислорода необходимого для дыхания бактериоидов, вместе с тем поддерживая концентрацию  $O_2$  на безопасном для нитрогеназы уровне. Наряду с транспортной функцией, Лг могут участвовать в модулировании NO сигнала, защите от окислительного и нитрозактивного стресса.

Показано также, что Лг могут переносить  $O_2$  и к митохондриям растений, то есть они оказывают влияние на интенсивность дыхания. Так как симбиотический Лг синтезируется в клубеньках бобовых растений, очень важно было выяснить образование клубеньков у разных видов клевера в различных условиях увлажнения. У всех видов клевера общее число клубеньков в фазу вегетации (4-6 листьев) значительно больше у растений, произрастающих в пойме (70-80 шт. на одно растений), чем на водоразделе (20-30 шт.). Это свидетельствует о более интенсивном инфицировании растений клевера в пойме. На водоразделе потенциально возможное образование клубеньков лимитируется неблагоприятными для размножения бактерий почвенными условиями. В фазу цветения общее число клубеньков у всех видов растений увеличивается, но изменяется их соотношение. У цветущих растений клевера на водоразделе их становится больше (140-150 шт.), чем в пойме (90-100 шт.). Это, видимо, связано с тем, что у клевера в условиях поймы клубеньки быстро развиваются, стареют и отмирают. Что касается размеров клубеньков всех форм, то у влаголюбивых видов клевера (к. луговой и к. ползучий) и произрастающих в пойме, они значительно больше, чем у засухоустойчивых видов (к. горный и к. альпийский), произрастающих на водоразделе. Так размеры (ср. арифм. из 10 измерений, мк) составляет: к. луговой (крупные- 1115,3; средние- 903,1; мелкие- 776,5); к. ползучий (крупные- 995,8; средние- 797,9; мелкие- 651,9); к. горный (крупные- 820,7; средние- 549,0; мелкие- 411,1); к. альпийский (крупные- 988,1; средние- 758,8; мелкие- 617,9). Активность клубеньков зависит от содержания в них Лг. Для определения Лг использовали клубеньки растений в фазе цветения, т.к именно в этой фазе наблюдается наибольшее содержание Лг в клубеньках. Лг выделяли высаливанием сульфатом аммония в диапазоне 40-80% насыщения. Содержание Лг определяли по оптической плотности в изобестической точке  $\lambda = 525 \text{ nm}$  и  $E_{\text{мм}} = 9,52$  на спектрофотометре.

Установлено, что в условиях достаточного увлажнения содержание Лг в клубеньках у всех представленных видов выше, чем в условиях недостатка влаги. Так, в условиях поймы содержание Лг составляет у к. горного- 7,67 мг/г сыр.веса, у к. альпийского- 9,08 мг/г, к. лугового- 10,77 мг/г, к. ползучего- 7,40 мг/г. На водоразделе содержание Лг у к. горного- 3,18 мг/г сыр.веса, у к. альпийского- 3,36 мг/г, к. лугового- 2,12 мг/г, к. ползучего- 1,16 мг/г. Таким образом, по содержанию леггемоглобина можно судить об интенсивности процессов азотфиксации в клубеньках. Наиболее активны в условиях поймы клубеньки к. альпийского и к. лугового, а в условиях водораздела к. альпийского и к. горного.

**Активирование растительных пероксидаз при стрессе****Часов А.В.\* \*\*, Гурьянов О.П.\* , Минибаева Ф.В.\* \*\***

\*Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Лобачевского ул., 2/31, Казань, Россия

\*\*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Кремлевская ул., 18, Казань, Россия  
[chasov@kibb.knc.ru](mailto:chasov@kibb.knc.ru)

Пероксидаза (КФ 1.11.1.7) - один из ключевых ферментов, который выполняет защитные функции в организме и считается стрессовым маркером. Она присутствует в различных органах и тканях растений и активируется при воздействии различных стрессоров как биотической, так и абиотической природы. В наших экспериментах показано, что растворимая пероксидаза – это высокомолекулярный фермент, способный в стрессовых условиях высвобождаться в апопласт и участвовать в ранних ответных реакциях. Обнаружено, что детергенты, трипсин, ксенобиотики различной химической природы, ди- и трикарбоновые кислоты, ионы металлов активировали экстраклеточную пероксидазу. Вероятно, что активирование этого фермента связано с модификацией плазмаллемы, происходящей при действии данных агентов. Активирование пероксидазы при действии стрессовых факторов может сопровождаться быстрой и чрезмерной продукцией активных форм кислорода (АФК) – окислительным взрывом.

В настоящее время считается установленным фактом, что в определенных условиях пероксидаза способна к образованию АФК. Необходимым условием для возникновения и развития в растительных клетках окислительного взрыва, опосредованного пероксидазой, является защелачивание апопласта и выход восстановителей. Нами показано, что пероксидаза может активироваться в корнях при отсечении апикальной части у первого настоящего листа проростка пшеницы. При этом не происходит изменения в изоферментном спектре фермента. Вероятно, что передача стрессового сигнала от листа проростка к корням приводит к выходу субстратов пероксидаз, и как следствие – к активированию экстраклеточной пероксидазы. Обнаружено, что в стрессовых условиях в экстраклеточный раствор (постинкубационный раствор после извлечения из него отсеченных корней пшеницы) высвобождаются соединения фенольной природы. Из девяти мажорных метаболитов, высвобождающихся в экстраклеточный раствор, восемь являются субстратами пероксидазы. Методами ВЭЖХ и масс-спектрометрии нами были идентифицированы три С-гликозилированных флавоноидов. Все три имеют одинаковую молекулярную массу 564 Да. У каждого из них в положении 6 и 8 имеется два моносахаридных заместителя, относящихся к пентозам и гексозам. Основываясь на УФ-спектре поглощения вещества и его молекулярной массе можно предположить, что агликоном является апигенин.

Таким образом, три идентифицированных флавоноидов являются шафтозидами. Из литературных данных известно, что подобные соединения могут играть защитную функцию, в частности, защищать рис и аризему от патогенов. Вероятно, что соединения, обнаруживаемые в экстраклеточном растворе, могут служить субстратами для пероксидаз при образовании АФК в ходе стресс-индуцированного окислительного взрыва, но данное предположение требует дальнейших исследований. В наших экспериментах показано, что пероксидазы несосудистых растений, таких как мхи и антоцерос, проявляли функции и свойства, подобные таковым у пероксидаз сосудистых растений. Как и пероксидазы сосудистых растений, пероксидазы несосудистых растений способны к образованию АФК. Мы предполагаем, что образование АФК пероксидазами – эволюционно древний процесс, возникший как защитный механизм с целью повышения адаптационных механизмов высших растений, их приспособления к изменяющимся условиям внешней среды и успешной колонизации различных экологических ниш.

Работа поддержана грантами РФФИ № 17-04-0156217 и 17-44-160142 p\_a.

## Аргинин из хвойных растений для медицины и ветеринарии

*Чернобровкина Н.П., Робонен Е.В., Унжаков А.Р.\**

ФГБУН Институт леса КарНЦ РАН, ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Россия  
\*ФГБУН Институт биологии КарНЦ РАН, ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Россия  
[chernobrovkina50@bk.ru](mailto:chernobrovkina50@bk.ru)

Древесная зелень хвойных растений содержит комплекс органических соединений, обладающих высокой биологической активностью. Приоритетность соединений природного происхождения при создании лекарственных препаратов засвидетельствована историей фармации и фармакологии. В качестве недостатков получения лекарственных соединений из растительного сырья отмечают ограниченность природных источников, крупномасштабное использование которых может привести к экологическим проблемам. Использование отходов, к которым относится и древесная зелень, не создает такие проблемы, а способствует их решению.

Свободные аминокислоты составляют до 30% водорастворимой фракции биологически активных веществ древесной зелени хвойных растений. Аргинин входит в состав многих терапевтических препаратов и противовирусных средств. Применяется в кардиологии и иммунологии, поскольку является источником образования окиси азота (NO) – мощного сосудорасширяющего фактора и нейромедиатора.

Древесную зелень хвойных растений предлагается использовать в качестве источника получения обогащенных аргинином хвойных препаратов. Установлено, что регулирование азотного и борного обеспечения позволяет за один вегетационный период в десятки и сотни раз повышать содержание аргинина в хвое. Многократное повышение содержания аргинина в хвое древесных растений при повышенном азотном питании отмечалось многими исследователями, однако особый режим минерального питания как способ получения обогащенного аргинином растительного сырья предложен впервые.

Предложено теоретическое обоснование накопления аргинина у хвойных растений на примере сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) и ели европейской (*Picea abies* L.) при регуляции азотного и борного обеспечения. Исходя из того, что бор стимулирует поступление азота в хвойное растение и транспорт углеводов в растениях и таким образом повышает их азотный и углеводный статусы, а дефицит углеводов вызывает деградацию аргинина, можно предположить, что оптимальное обеспечение бором хвойных растений активизирует синтез аргинина и ингибирует процесс его катаболизма в хвое.

Определены особенности влияния азота и бора при раздельном и совместном внесении и в зависимости от доз на аминокислотный состав хвои сосны обыкновенной. Выявлены две группы аминокислот, отличающихся характером изменения их уровня под воздействием азота и бора. Данные позволяют предлагать пути повышения содержания не только аргинина, но и других свободных аминокислот у хвойных растений путем регуляции азотного и борного обеспечения.

Установлено, что наиболее эффективным сроком внесения азота и бора в почву для максимального накопления аргинина в хвое 10-летней сосны обыкновенной является первая декада июня. Высокий уровень аргинина в хвое сохраняется в течение годового цикла в год внесения азота и бора. На основании полученных данных с учетом показателей, характеризующих долю массы хвои к массе стеблей в зависимости от положения в кроне дерева, а также распределения аргинина по мутовкам, рекомендуется отбор хвои первого и второго годов со 2 – 4 мутовки дерева, поскольку в них содержится до 84 % аргинина кроны. Аргинин накапливается преимущественно в хвое первого года жизни. По результатам исследований разработана технология повышения содержания аргинина в хвое сосны обыкновенной и отбора растительного сырья.

Из обогащенной аргинином хвои получены водный экстракт и хвойная мука, которые испытаны в качестве кормовой добавки пушным зверям и домашней птице. Выявлены дозы хвойных препаратов, которые оказывают положительное влияние на показатели роста, продуктивности и иммунитета животных. У американской норки (*Mustela vison* Shr.) улучшение под влиянием хвойного аргининового экстракта хозяйственно-полезных признаков – показателей воспроизводства и динамики роста молодняка сопровождалось интенсификацией метаболических процессов. В большинстве органов подопытных норок отмечалось увеличение уровня низкомолекулярных антиоксидантов – глутатиона, токоферола и ретинола, а также выявлен иммуномодулирующий эффект препарата у молодых животных, сохранность которых под воздействием препарата повышалась на 30 %. Включение в рацион курам-несушкам кросса «Ломан-браун» обогащенной аргинином хвойной муки способствовало стабильному и интенсивному росту ремонтного молодняка, повышало их среднесуточные приросты на 16%, стимулировало яйценоскость на 47%. Актуальным является разработка способов выделения химически чистого аргинина из обогащенной аргинином хвои. Использование в производстве технологий получения фармацевтических субстанций из обогащенной аргинином древесной зелени позволит сократить импорт дорогостоящих лекарственных препаратов для медицинской и ветеринарной практики.

Работа выполнена в рамках проекта № 0220-2014-0009 по государственному заданию ИЛ КарНЦ РАН.

## Накопление аскорбиновой кислоты в кресс-салате как ответная реакция на совместное воздействие NaCl-засоления и щелочности корневой среды

Четина О.А., Арисова А.К., Боталова К.И.

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия  
[chetoks@gmail.com](mailto:chetoks@gmail.com)

Аскорбиновая кислота участвует в процессах регуляции роста, цветения, вегетативной и репродуктивной дифференциации, в водном и минеральном обмене, регуляции ферментативной активности, стимуляции метаболизма, связанных с обменом нуклеиновых кислот и синтезом белка. Известно, что воздействие засоления на растения вызывает сверхпродукцию активных форм кислорода. Аскорбиновая кислота – представитель «большой тройки» биологических восстановителей (НАД(Ф)Н, глутатион, аскорбат), внутри клеток около 90% аскорбата находится в восстановленной форме. С защитными реакциями при окислительном стрессе в растительной клетке теснейшим образом связаны взаимопревращения аскорбиновой и дегидроаскорбиновой кислот.

Актуальность изучения механизмов адаптации растений к совместному воздействию засоления и щелочности обусловлена тем, что эти факторы сочетаются в природных и техногенных почвах. В современной физиологии растений не достаточно изучена ответная реакция растений на комбинированное воздействие этих факторов состояния корневой среды.

Цель данной работы – оценка воздействия NaCl-засоления и щелочности корневой среды на содержание аскорбиновой кислоты в кресс-салате *Lepidium sativum* L. Кресс-салат характеризуется повышенным конститутивным пулом аскорбиновой кислоты. Исследование проведено в модельных опытах с вариантами отдельного засоления 0,2, 0,4, 0,6 и 0,8 % NaCl и совместном действии разного уровня засоления с pH 6, 7, 8, 9. Растения выращивали на вермикулите с питательным раствором Кнопа в течение 7 дней, затем их поливали растворами с определенной концентрацией соли и разной реакцией среды. Общее содержание аскорбиновой кислоты в растениях определили через 16 часов после воздействия стресс-факторов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии; восстановительную активность изучали по способности восстанавливать 2,6-дихлорфенолиндофенол (метод Петта – Прокошева). Свободные ионы  $\text{Na}^+$  извлекали из растительной массы водной вытяжкой, содержание  $\text{Na}^+$  определили на пламенном фотометре. Высоту и массу растений измерили через 2 суток после стресс-воздействия в 25 – кратной повторности. Результаты исследований обработаны методом двухфакторного дисперсионного и регрессионного анализов.

Действие факторов сопровождалось накоплением в растении аскорбиновой кислоты, при этом сила влияния щелочности (67,8 %) выше по сравнению с засолением (26,4 %). Регрессионный анализ показал достоверную зависимость между pH воздействующего раствора и общим количеством аскорбиновой кислоты в растении:  $y = -67,1 + 25,9 \cdot x$ , коэффициент корреляции  $R = 0,67$ , критерий Фишера  $F = 11,2$ , значимость  $p = 0,0001$ . Наибольшее содержание аскорбиновой кислоты отмечено на варианте 9pH + 0,6 % NaCl; при максимальном засолении и такой же щелочности (9pH + 0,8 % NaCl) ее количество снизилось, возможно, из-за угнетения растений. Участие аскорбиновой кислоты в адаптации растений к засолению подтвердило достоверное уравнение прямолинейной зависимости между содержанием аскорбиновой кислоты (y) и свободными ионами  $\text{Na}^+$  (x):  $y = 21,12 + 0,24 \cdot x$ ,  $R = 0,43$ ,  $F = 3,38$ ,  $p = 0,004$ .

Количество восстановленной формы аскорбиновой кислоты в растениях несколько повысилось лишь под действием засоления; по результатам дисперсионного анализа сила влияния этого фактора составила 27%. Восстановительная активность аскорбиновой кислоты при окислительном стрессе может быть обусловлена усилением роли аскорбат-глутатионового цикла или пути Холливэла-Асада в элиминировании пероксида.

Аккумуляция  $\text{Na}^+$  в надземной части растений усиливалась пропорционально концентрации хлоридов натрия в вариантах опыта:  $y = 331 + 231 \cdot x$ ,  $R = 0,75$ ,  $F = 18,1$ ,  $p = 0,0001$ . Максимальное накопление натрия отмечено на фоне совместного воздействия 0,8 % NaCl и 9 pH, возможно, высокая щелочность нарушала проницаемость мембран и усиливала неконтролируемое поступление ионов в клетки.

Через двое суток после воздействия стресс-факторов отмечено некоторое уменьшение массы растений с ростом засоленности корневой среды (сила влияния NaCl – 33%). Но масса кресс-салата не зависела от щелочности корневой среды, вероятно, растение адаптировалось к воздействию этого фактора. На высоту растений оба фактора не оказали достоверного воздействия.

Таким образом, засоление и ощелачивание корневой среды сопровождалось накоплением аскорбиновой кислоты и усилением ее восстановительной активности в кресс-салате. Щелочность в большей степени повлияла на общее содержание аскорбиновой кислоты по сравнению с засолением. Можно утверждать, что у кресс-салата данная реакция имеет адаптивный характер, т.к. аккумуляция аскорбиновой кислоты служит показателем восстановительной и общей физиологической активности растений.

**Взаимодействие верхушек и корешков в реакции растения на изменение условий существования*****Чиков В.И.***

ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН, Казань, 420111. Ул. Лобачевского, д. 2/31. Россия. Тел. (843)231-90-46  
[vichikov@bk.ru](mailto:vichikov@bk.ru)

Известно, что главными по мощности потоками массового переноса вещества у растений являются вода и нитраты в восходящем направлении, а продукты фотосинтеза в нисходящем направлении. Все остальные вещества переносятся на порядок в меньшем количестве. Можно было предполагать, что эволюция не могла не воспользоваться этим обстоятельством в регуляции физиолого-биохимических процессов в растении. Предлагаются самые разные механизмы интеграции регуляторных процессов в целом растении: тургорные [Walch-Liy, Filleur, Gan, 2005], неорганический фосфат или углеродные метаболиты [Paul, Pellny, 2003], белковые переносчики [Ainsworth, Bush, 2011], и гормональные вещества [Paul, Foyer, 2001]. Большое значение отводится NO-сигнальной системе [Lamattina, Polaco, 2006]. Однако все эти механизмы не объединены в общую систему регуляции физиолого-биохимических процессов на уровне целого растения. На основании 40-летних исследований особенностей изменения фотосинтеза, транспорта ассимилятов, ростовой функции и ультраструктуры клеток листа при нарушении донорно-акцепторных отношений [ДАО] между фотосинтезирующими и потребляющими ассимиляты органами, а также уровня азотного [нитратного] питания представлена схема включения перестройки метаболизма при изменении условий существования растения. Ключевое значение в регуляции ДАО имеет всасывающая часть корневой системы, конкурирующая с другими (в том числе и с запасующими органами) за получение продуктов фотосинтеза. Ассимиляционный поток из листьев падает, когда уровень нитратов в апопласте увеличивается, указывая на триггерную функцию NO-сигнальной системы. Предложена концепция, согласно которой регуляция метаболизма растения при смене условий запускается через взаимодействия встречных потоков нитратов и фотоассимилятов. Взаимодействие заключается в изменении степени восстановления поглощенных нитратов, приводящее к образованию NO. NO через активацию синтеза каллозы закрывает поры в ситовидных трубках и тормозит транспорт сахаров по флоэме. Под действием NO-сигнальной системы активируются многочисленные гены [Besson-Bard, Astier, Rasul et al., 2009]. Из образовавшихся в результате их экспрессии ферментов функционируют и изменяют метаболизм только те, для которых имеются, появившиеся в результате нарушения ДАО, кофакторы и субстраты. Такая реорганизация метаболизма происходит каждый новый фотопериод, в соответствии с новыми уровнями ассимилятов и нитратов в растении.



## Индукция защитных реакций у *Glycine max* L. в ответ на абиотический стресс

Чмелёва С.И., Рыжих Т.М.

Таврическая Академия ФГОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», пр-т. Вернадского, 4, Симферополь, Россия  
[chmeleva-s@mail.ru](mailto:chmeleva-s@mail.ru)

Потребность всестороннего изучения устойчивости растений к абиотическому стрессу является наиболее актуальной в условиях Республики Крым.

Ввод Северо-Крымского канала и расширение площади орошаемых земель привело к обширному вторичному засолению почв, что вызывает у культурных растений осмотический стресс. На значительной территории степного Крыма в настоящее время стало невозможно получать высокие урожаи различных сельскохозяйственных культур из-за негативного влияния засоляющих ионов. Один из способов повышения устойчивости и выработку защитных реакций у растений к абиотическим факторам среды предусматривает обработку растений регуляторами роста, которые обладают антистрессовым действием. Синтетические биологически активные вещества оказывают многообразное влияние на растения, регулируя основные физиолого-биохимические процессы растительного организма. Большинство используемых препаратов являются аналогами эндогенных фитогормонов. К таким регуляторам роста относится препарат широкого спектра действия Циркон. Действующим веществом препарата Циркон является смесь гидроксикоричных кислот (ГКК), а именно, кофейные и хлорогеновые кислоты, получаемые из растительного сырья эхинацеи пурпурной (*Echinacea purpurea* (L.) Moench). В реакции растений на абиотический стресс задействованы различные защитные механизмы. Так как, действие препарата Циркон на индукцию защитных реакций у различных культурных растений в условиях осмотического стресса в период прорастания изучено недостаточно, это и послужило целью наших исследований. В качестве объектов исследования использовались семена и проростки *Glycine max* L. сорта Apollo. Отобранные по средним размерам и протравленные в слабом растворе перманганата калия, семена замачивали в водном растворе препарата Циркон в течение 4 часов, а затем в чашках Петри помещали в термостат типа ТС-80-М-2 для проращивания согласно ГОСТ 12038-84. Для сравнения использовались семена, замоченные в дистиллированной воде. Для моделирования осмотического стресса в чашки Петри приливали по 15 мл раствора с различными концентрациями солей NaCl (50 мМ; 100 мМ; 150 мМ; 200 мМ). Для исследования действия препарата Циркон на прорастание семян при абиотическом стрессе использовали вышеперечисленные концентрации NaCl с добавлением регулятора роста. Для сравнения использовались семена, выращиваемые на растворах NaCl. Физиологические эксперименты проводили по общепринятым в физиологии растений методам. Энергия прорастания и всхожесть семян определяли согласно ГОСТ 12038-84. Полученные экспериментальные данные обработаны с помощью методов математической статистики.

Нами было установлено, что энергия прорастания семян, обработанных регулятором роста, увеличивается в 1,1 – 3,0 раза, а длина главного корня – на 3,6 % – 26,6 %, количество боковых корней – на 21,13%, длина побега – на 21,29 % и количество листьев – на 7,35% в среднем, по сравнению с контрольными растениями (замоченными в дистиллированной воде). Также в условиях абиотического стресса под действием синтетического регулятора роста установлено достоверное увеличение объема корневой системы на 9,6 % по сравнению с контрольными растениями. Интенсивность транспирации *Glycine max* L. увеличилась в среднем на 5,6 % относительно растений, не подвергшихся предпосевной обработке препаратом.

Таким образом, представленные результаты позволяют нам сделать вывод о том, что предпосевная обработка Цирконом приводит к индукции антистрессовых механизмов, благодаря чему повышается устойчивость *Glycine max* L. к действию абиотического стресса.

## Митотическая активность меристематических клеток корней *Zea mays* L. при действии препарата Циркон в условиях солевого стресса

Чмелёва С.И., Собчук Н.А.

Таврическая Академия ФГОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», пр-т. Вернадского, 4, Симферополь, Россия  
[chmeleva-s@mail.ru](mailto:chmeleva-s@mail.ru)

Для повышения урожайности сельскохозяйственных растений в растениеводстве применяют различные регуляторы роста, которые могут быть природными и синтетическими. Большая часть синтетических регуляторов роста представляют собой физиологически активные аналоги эндогенных фитогормонов. К ним относится препарат Циркон. В растениях Циркон осуществляет функции стимулятора роста, иммуномодулятора и адаптогена к стрессу. Препарат не опасен для человека, теплокровных животных, рыб и полезных насекомых; не накапливается в почвах; не загрязняет грунтовых и поверхностных вод; не фитотоксичен. Меристематические ткани являются наиболее чувствительными и активно реагирующими на внешние воздействия. Для выяснения изменения процессов роста проростков кукурузы после обработки семян различными концентрациями соли, нами были определены митотические индексы ядер апикальных корневых меристем, как центров регулирования клетки после экзогенного воздействия регулятора роста. На сегодняшний день действие данного регулятора роста на растения кукурузы в условиях солевого стресса изучено недостаточно. Поэтому, целью нашей работы было изучить влияние препарата Циркон на митотическую активность апикальной меристемы корней кукурузы в условиях засоления.

В качестве объектов исследования были использованы семена и проростки кукурузы *Zea mays* L., CV / ТАР 349 МВ. Семена закладывали в чашки Петри на фильтровальную бумагу по 25 шт. Для моделирования осмотического стресса приливали по 10 мл раствора с различными вариантами концентрации солей NaCl (50 мМ; 100 мМ; 150 мМ; 200 мМ; контроль 1 – дистиллированная вода). Для исследования действия препарата Циркон на прорастание семян кукурузы при осмотическом стрессе использовали вышеперечисленные концентрации NaCl с добавлением 0,05 % регулятора роста (контроль 2 – 0,05 % Циркон). На 4-е сутки у проростков кукурузы отрезали корень (5-7 мм) и погружали его в уксусный алкоголь на 1 сутки. Фиксированные кончики корней переносили в раствор 70° этилового спирта и таким образом сохраняли в холодильнике. Окраску корешков проводили ацетокармином на протяжении двух суток. Микропрепараты «раздавленная капля» готовили по стандартной методике Паушевой. Каждый опыт проводили в трехкратной повторности. По каждому варианту эксперимента анализировали кончики корней 3 проростков, в каждом кончике корня – не менее 1000 клеток. Расчет митотического и фазных индексов производился по формулам Прохоровой. Статистическую обработку полученных данных осуществляли, рассчитывая среднюю арифметическую и стандартную ошибку средней арифметической. Для определения достоверных отличий распределений биометрических данных использовали t-критерий Стьюдента.

При моделировании осмотического стресса наблюдается ингибирование пролиферации клеток меристемы по сравнению с контролем 1. Отмечается обратно пропорциональная зависимость между концентрацией солевого раствора и митотическим индексом. Так, митотический индекс в вариантах опыта 50 мМ NaCl – 200 мМ NaCl понижается на 29,79-73,84 % по сравнению с контролем 1.

Добавление регулятора роста Циркон в растворы солей вызывает стимуляцию пролиферации клеток меристемы. Статистически подтверждается достоверный положительный эффект препарата. Митотический индекс в контрольном варианте 2 – Циркон 0,05 % превышает митотический индекс в контроле 1 на 60,85%. Данный показатель в вариантах опыта, содержащих Циркон и 50–200 мМ NaCl, достоверно больше на 27,29-70,81 % по сравнению с вариантами 50 мМ NaCl – 200 мМ NaCl.

Одновременно с изучением митотического индекса был проведен анализ длительности фаз митоза. Во всех исследованных вариантах не наблюдается достоверных отличий фазных индексов как при сравнении исследуемых вариантов с контролем 1, так и при сравнении вариантов с одинаковой концентрацией соли между собой. По сравнению с контролем 1 профазный индекс в исследуемых вариантах находится в интервале -16,17...+13,04 %, метафазный индекс – в интервале -19,35...+6,83 %, анафазный индекс – в интервале -6,91...+15,01 %, телофазный индекс – в интервале -13,21...+17,08 %.

Таким образом, выявлено достоверно положительное влияние регулятора роста Циркон на митотическую активность клеток апикальной меристемы корней проростков кукурузы в условиях солевого стресса. Предварительное замачивание семян в растворах изучаемого синтетического регулятора роста будет стимулировать митотическую активность клеток апикальной меристемы корней проростков кукурузы, что можно использовать для усиления процессов роста корней, что в конечном итоге приведет к повышению их поглотительной способности и как следствие, к увеличению продуктивности растений.

**Регуляция активности  $H^+$ -АТФазы плазмалеммы суспензионной культуры табака линии Ву-2 на транскрипционном уровне в ходе роста растяжением**

**Чэнь Т., Кирпичникова А.А., Романюк Д.А., Емельянов В.В., Шишова М.Ф.**

ФГБОУВО "Санкт-Петербургский государственный университет", СПбГУ 199034 Санкт-Петербург,  
Университетская наб. 7/9; Тел: +7 (812) 328-96-95;  
[mshishova@mail.ru](mailto: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 неблагоприятных факторов. Тем не менее, данные о регуляции активности этих протон-транспортирующих ферментов в ходе физиологических процессов пока еще очень фрагментарны. Рост растяжением – это интегральный процесс, в реализацию которого включены все компартменты клетки. Активное участие  $H^+$ -АТФазы плазмалеммы в процессе роста растяжением стало аксиомой физиологии растений с конца 70х годов прошлого века.

Данное исследование ставило своей целью анализ экспрессии генов, кодирующих  $H^+$ -АТФазу плазмалеммы. Исследование проведено с использованием уникальной суспензионной культурой клеток табака Ву-2 (*Nicotiana tabacum* L. cv. Bright Yellow) дикого типа, 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*, и *PMA6* зафиксирован на 2 неделю развития суспензионной культуры табака дикого типа. Усиление экспрессии полностью соответствовало увеличению количества фермента в составе плазмалеммы, представленной очищенной везикулярной фракцией, что было показано с помощью иммуноблот-анализа. Данные результаты согласуются с усилением гидролитической активности  $H^+$ -АТФазы плазмалеммы.

Таким образом, получено прямое доказательство регуляции работы  $H^+$ -АТФазы плазмалеммы на транскрипционном уровне.

Экспериментальные данные с использованием клеток табака согласуются с предложенной ранее интегральной моделью регуляции активности  $H^+$ -помпы плазмалеммы в ходе роста растяжением, которая была разработана на основании результатов, полученных на этиолированных гипокотелях арабидопсиса и колеоптилях кукурузы, клетки которых растут растяжением.

Работа частично поддержана грантом РФФИ № 16-04-00743.

## Светоиндуцируемые низкомолекулярные стрессовые белки тилакоидных мембран *Synechocystis* sp.

*Шарапова Л.С., Юрина Н.П.*

ФГБУН Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН Ленинский проспект, дом 33, строение 2, Москва, Россия  
[lubasha1707@mail.ru](mailto:lubasha1707@mail.ru)

Свет необходим для прохождения процесса фотосинтеза, однако избыточное освещение губительно воздействует на фотосинтетический аппарат. Существуют различные механизмы, позволяющие снизить повреждающее действие избыточного освещения, одним из которых является синтез светоиндуцируемых низкомолекулярных белков тилакоидов, содержащих одну трансмембранную спираль (One-helix protein; ОНР). Эти консервативные белки обнаружены у всех изученных фотосинтезирующих эукариот (окисленных фототрофов). Показано, что белки ОНР играют существенную роль в сборке и стабилизации фотосинтетических пигмент-белковых комплексов тилакоидных мембран и, особенно, в реакционных центрах. У цианобактерий эти белки обозначают - HLIP (high light-inducible proteins) или SCP (small CAB-like proteins). Предполагают, что HLIP/SCP белки цианобактерий имеют большое число функций, такие как фотопротекция, сборка и репарация фотосистемы 2, регуляция биосинтеза тетрапиролов и содействие, в качестве вспомогательного фактора, интеграции хлорофилла с хлорофилл-связывающими белками. Однако локализация HLIP/SCP белков и их основные функции остаются недостаточно исследованными. В работе изучена ассоциация белков HliA/HliB с пигмент-белковыми комплексами тилакоидных мембран с помощью двумерного электрофореза и последующей масс-спектрометрии MALDI-TOF. Мембранные белковые комплексы, выделенные из клеток дикого типа и мутантов *Synechocystis* sp. PCC 6803, фракционировали с помощью нативного CN-PAGE и затем с помощью денатурирующего SDS-PAGE. При фракционировании лизата тилакоидных мембран в нативных условиях удалось выявить следующие комплексы: тримеры и мономеры комплекса фотосистемы 1 (ФС1), димеры и мономеры комплекса фотосистемы 2 (ФС2), цитохромный комплекс, АТФ-азный комплекс, комплекс NAD(P)H-хинон-оксидоредуктазы, а также зону свободных белков, отделившихся от комплексов в процессе выделения и фракционирования. С помощью иммуноблоттинга были идентифицированы HliA/HliB белки в нескольких комплексах и в зоне свободных белков. Для того, чтобы определить, с какими именно комплексами ассоциированы исследуемые белки, была проведена идентификация белковых пятен с помощью масс-спектрометрии. Установлено, что HliA/HliB белки ассоциированы с тримерами ФС1, комплексами ФС2 и мономерами ФС1. Белки HliA/HliB обнаружены также в зоне свободных белков. Эти результаты свидетельствуют о том, что эти белки при использованном способе фракционирования частично отделяются от хлорофилл-белковых комплексов и обнаруживаются в зоне свободных белков. При исследовании мутанта, дефицитного по ФС2, были выявлены все комплексы, содержащиеся в тилакоидных мембранах клеток дикого типа, за исключением комплекса ФС2. С помощью иммуноблоттинга удалось установить, что у мутанта без ФС2 HliA/HliB белки ассоциированы с мономерами ФС1. Ассоциация HliA/HliB белков как с тримерами и мономерами фотосистемы 1, так и с комплексом фотосистемы 2 предполагает их участие в стабилизации фотосинтезирующих пигмент-белковых комплексов и в защите фотосинтетического аппарата от светового стресса. По-видимому, ОНР белки необходимы для правильной архитектуры тилакоидов, а Hli белки как эволюционные предшественники ОНР выполняют важные функции как в сборке, так и в стабильности пигмент-белковых комплексов тилакоидных мембран.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант 16\_04\_01626).

**Impact of plants on biofilm formation intensity by bacterial pathogens of plant and mammals***Shafikova T.N., Omelichkina Yu.V., Boyarkina S.V.*Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry, Irkutsk, Russia  
[t-shafikova@yandex.ru](mailto:t-shafikova@yandex.ru)

It is known that bacteria in nature do not exist as single cells. Rather, bacteria often form highly organized community of microbial cells attached to the surface or to each other and enclosed in a polymeric matrix, called biofilms. Bacteria in attached condition in biofilm are protected from the environmental damaging factors and effects of host organism during infection. Currently experimentally proved the role of microbial biofilms in the etiology and pathogenesis of human infectious diseases. The participation biofilms in the origin and development of diseases in plants also can not be excluded. Therefore, the identification of the bacterial phytopathogens ability to form biofilms and the role in the development of plant diseases, including agricultural plants, determines not only theoretically, but practical interest.

In this study the process of *Cms* biofilm formation on the conglomerates of suspension cultures cells of plant visualized by fluorescence microscopy techniques. Differences in *Cms* biofilm formation intensity in the interaction with plant cell cultures depending on the species or the variety of resistance were established by the static method detection biofilm. Thus, *Cms* biofilm formation when bacteria interact with potato suspension-cultured cells (host plant) susceptible varieties (*Udacha*, *Luk"yanovskii*, *Zhukovskii rannii*) was significantly higher than in the interaction with resistant sort of potato (*Lugovskoy*) and tobacco (non-host plant) where biofilm formation was minimal. Tobacco plant has a specific resistance to *Cms* and responds to invading pathogen hypersensitivity reaction (HR-response), which is accompanied by the generation of aggressive metabolites - ROS, nitric oxide, phytoalexins, etc. These metabolites are harmful not only for to the plant cells, but also the pathogen, and probably therefore inhibit the biofilm formation. When interacting bacteria *Cms* with culture tobacco cells transformed with *hsp 101* gene, biofilm formation was significantly higher than in interaction with culture cells of normal tobacco. It is assumed that overexpressed protein HSP101 of transformed culture cells may exhibits antiapoptotic function and inhibits the development of HR-reaction, which in turn, determines the increased *Cms* biofilm formation in the interaction with the transgene. Note that the normal tobacco cells respond to *Cms* by development HR - response, which in turn is detrimental to bacteria, and probable for the form biofilms.

The biofilm formation intensity human and animal bacterial pathogen *Escherichia coli* in the interaction with tobacco and potato cultures cells did not differ. Apparently, different for resistance species of plants almost equally effect on the formation of biofilm by atypical pathogen for plants, regardless of resistant variety or plant species. It is likely that this reaction determined in the absence of conjugation in the evolution process between plant and atypical pathogen.

The data obtained at different levels of the organization of plant organism - culture cells and whole plant - are consistent and support each other, which further allow the use of cell cultures of plants studying thin molecular genetic mechanisms underlying the process of the formation of bacterial biofilms in the interaction, possibly with other organisms.

Key words: *Cms*, *Escherichia coli*, bacterial biofilms, culture cells, tobacco, potato.

## Влияния растений на процесс биопленкообразования бактериальными патогенами растений и млекопитающих

Шафикова Т.Н., Омеличкина Ю.В., Бояркина С.В.

Иркутск, Россия  
[t-shafikova@yandex.ru](mailto:t-shafikova@yandex.ru)

Известно, что бактерии в природе существуют не как отдельные клетки, а в составе биопленок, которые представляют собой высокоорганизованное микробное сообщество клеток, прикрепленных к поверхности или друг к другу и заключенных в матрикс синтезированных ими полимеров. Существование бактерий в составе биопленок обеспечивает им защиту в условиях окружающей среды, а также в инфицируемых ими макроорганизмах. В настоящее время экспериментально доказана роль микробных биопленок в этиологии и патогенезе инфекционных болезней у человека. Нельзя исключить также участие биопленок в возникновении и развитии заболеваний у растений. Поэтому, не только теоретический, но практический интерес представляет выявление способности к образованию пленок у фитопатогенных бактерий и определения их роли в развитии заболеваний растений, в том числе и у сельскохозяйственно-значимых культур.

С помощью флуоресцентной микроскопии был визуализирован процесс образования биопленок фитопатогенными бактериями *Cms* на клеточных конгломератах суспензионных культур клеток исследуемых растений. Статическим методом детекции биопленок были установлены различия в интенсивности биопленкообразования *Cms* при взаимодействии с культурами клеток растений в зависимости от видовой или сортовой резистентности. Так, при взаимодействии *Cms* с культурами клеток картофеля (хозяин *Cms*) восприимчивых сортов (Удача, Лукьяновский, Жуковский ранний) образование биопленок было значительно выше, чем при взаимодействии *Cms* с устойчивым сортом картофеля (Луговской) и табаком (растение-не хозяин для *Cms*), где образование биопленок было минимальным. Растение табака обладает видовой устойчивостью к *Cms* и отвечает на вторжение патогена реакцией сверхчувствительности (СЧ-реакция), что сопровождается генерацией агрессивных метаболитов - АФК, оксид азота, фитоалексины и т.п. Данные метаболиты губительны не только для клеток растения, но и патогена, и, вероятно, поэтому подавляют образование биопленок. При взаимодействии бактерий *Cms* с культурой клеток табака, трансформированного геном *hsp* 101, образование биопленок оказалось значительно выше, чем при взаимодействии с культурой клеток нормального табака. Предполагается, что сверхэкспрессирующийся белок HSP101 в клетках трансформированной культуры может проявлять противоапоптозные функции и подавлять развитие СЧ-реакции, что, в свою очередь, и определяет повышенное пленкообразование бактерий при взаимодействии с трансгеном. Отметим, что клетки нормального табака реагируют на воздействие бактерий *Cms* развитием СЧ-реакции, что в свою очередь губительно для бактерий и, вероятно, для образования биопленок.

При взаимодействии культур клеток табака и картофеля с бактериальным патогеном человека и животных *Escherichia coli* интенсивность образования биопленок практически не различались. По-видимому, различные по резистентности виды растений влияют на процесс образования биопленок нетипичного для растений патогена практически одинаково, независимо от устойчивости сорта или вида растения. Вероятно, что такой ответ обусловлен отсутствием сопряженных процессов между растением и нетипичным патогеном в ходе эволюции.

Данные, полученные на разных уровнях организации растительного организма - культуре клеток и целом растении - согласуются и подтверждают друг друга, что в дальнейшем позволит использовать культуры клеток растений для исследования тонких молекулярно-генетических механизмов, определяющих процесс образование биопленок при взаимодействии бактерий, возможно, и с другими организмами.

**Ключевые слова:** *Cms*, *Escherichia coli*, бактериальные биопленки, культура клеток, табак, картофель.

**Зависимость реакции растений *Cucumis sativus* от времени ДРОП-воздействий в суточном цикле****Шубаева Т.Г., Шерудило Е.Г., Тумов А.Ф.**Институт биологии Карельского научного центра РАН, Пушкинская ул., 11, Петрозаводск, Россия  
[shibaeva@krc.karelia.ru](mailto:shibaeva@krc.karelia.ru)

Ежесуточные кратковременные понижения температуры (ДРОП, от англ. *drop* – падение) широко применяются как агротехнический прием под названием «temperature drop» (в Европе) и «temperature dip» или «cool morning pulse» (в США) для получения компактной рассады овощных и клумбовых растений и при выращивании цветочных растений. Считается, что время суток, когда осуществляют снижение температуры, оказывает ощутимое влияние на степень ингибирования роста растений в высоту. Так, в первых работах было показано, что наиболее эффективным является снижение температуры в начале светового периода. Позже было установлено, что применение ДРОП в конце ночи может оказаться в этом плане даже более эффективным. О влиянии ДРОП на рост растений в другое время суток (кроме конца ночи и начала дня) информации крайне мало, а другие показатели (помимо линейного роста) почти не изучались. Исходя из этого, цель данной работы заключалась в изучении влияния ДРОП-воздействий в разное время суток (начало, середина и конец ночного и светового периодов) на рост и развитие, фотосинтетическую активность и холодоустойчивость растений огурца *Cucumis sativus* L.

С этой целью растения огурца выращивали в камере искусственного климата при температуре воздуха 23/20°C (день/ночь), 200 мкмоль квантов/(м<sup>2</sup>·с) ФАР, фотопериоде 16 ч. Начиная с 7-ых суток от момента замачивания семян, растения в течение 6 суток подвергали действию температуры 8°C в течение 2 ч в начале, середине или в конце ночного периода, а также в начале, середине или в конце дневного периода. Контролем служили растения, не подвергавшиеся ДРОП-воздействиям. По окончании этих обработок растения всех вариантов переносили в исходные температурные условия (23/20°C).

Все измерения проводили через сутки после завершения ДРОП-воздействий. Для проведения холодого теста отделенные листья в чашках Петри с влажной фильтровальной бумагой помещали в темноту при температуре 4°C на 30 ч, с последующим выдерживанием в течение 40 ч при температуре 23/20°C. После этого оценивали изменение проницаемости мембран по относительному выходу электролитов из тканей листа. Помимо этого, об изменении холодоустойчивости листьев судили по температуре (ЛТ<sub>50</sub>), вызывающей гибель 50% палисадных клеток листовых высечек после их промораживания в течение 5 мин в термоэлектрическом микрохолодильнике при последовательном изменении тестирующих температур с шагом 0.4°C. Жизнеспособность клеток определяли по коагуляции цитоплазмы и деструкции хлоропластов.

Полученные результаты показали, что под влиянием ДРОП-воздействий длина гипокотыла растений и черешков листьев снижалась по отношению к контролю, соответственно, на 10-12% и 20-28%. Достоверных различий между вариантами ДРОП-воздействий в разное время суток не выявлено, хотя наблюдается тенденция большего торможения линейного роста растений при ДРОП-воздействиях во время светового дня (в вариантах ДРОП в начале, середине и конце ночи). Площадь листьев в вариантах с ДРОП-воздействиями в ночное время была меньше по сравнению с контролем на 19-21%, а в вариантах с ДРОП-воздействиями во время светового дня, составляла лишь 53% от контрольной. Сухой вес растений в вариантах с ДРОП в ночное время был ниже, чем в контроле на 21-26%, а в вариантах с ДРОП в дневное время – на 52%. При этом ДРОП-воздействия не вызвали изменений в распределении биомассы между листьями, стеблями и корнями.

Содержание хлорофилла в листьях растений, подвергавшихся ДРОП-воздействиям ночью, практически не отличалось от контроля, а у листьев растений, подвергавшихся ДРОП-воздействиям в дневное время, было ниже, чем в контроле на 22-35%. Снижение значений потенциального квантового выхода фотохимической активности ФС II (Fv/Fm) в вариантах с ДРОП-воздействиями ночью было незначительным по отношению к контролю, а в вариантах с ДРОП в дневное время – достоверным, достигая минимальных значений (0.797±0.003) в варианте ДРОП в начале дня, которые однако свидетельствуют об отсутствии сколько-нибудь серьезных нарушений в работе фотосинтетического аппарата.

Результаты холодого теста, проведенного на отделенных листьях, показали, что выход электролитов из тканей листа у всех растений, подвергавшихся ДРОП-воздействиям был меньше по сравнению с контрольными растениями. Достоверных различий между вариантами ДРОП не выявлено. Холодоустойчивость листьев (ЛТ<sub>50</sub>) растений в вариантах с ДРОП была выше, чем у листьев контрольного варианта во всех вариантах опыта.

Таким образом, вопреки существующим представлениям о том, что ДРОП в середине ночи неэффективен в плане управления ростом растений, результаты нашей работы показали, что время ДРОП-воздействий (как в течение темного, так и светового периодов) незначительно влияет на их эффективность в отношении торможения линейного роста растений и повышения их устойчивости. Более значимым фактором является присутствие или отсутствие света во время ДРОП-воздействий. ДРОП на свету способствует в большей степени формированию компактных растений, снижая в то же время содержание хлорофилла и показатели фотосинтетической активности.

## Обнаружение фиторегуляторной активности метилотрофных бактерий, изолированных из грибоподобных протистов

Широких А.А., Назарова Я.И.\*, Абубакирова Р.И.\*, Широких И.Г.\*

Вятский государственный университет. Московская ул., 36, Киров, Россия

\*Зональный НИИСХ Северо-Востока им. Н.В. Рудницкого. Ленина ул., 166а, Киров, Россия  
[aleshirokikh@yandex.ru](mailto:aleshirokikh@yandex.ru)

Аэробные факультативные метилотрофные бактерии рода *Methylobacterium* являются обычными обитателями фитосферы дикорастущих и культурных растений. Тесный ассоциативный симбиоз метилотрофных бактерий с растением не видоспецифичен. Он основан на функционировании природного «метанольного цикла», который заключается в использовании метиловых бактериями в качестве источника углерода и энергии метанола – естественного продукта метаболизма растений, снабжая их взамен биоактивными соединениями, вне зависимости от почвенно-климатических условий и генотипических особенностей растений. Кроме того, они способны колонизировать не только ризосферу, но и филоплану растений. Среди метилотрофных бактерий нет фитопатогенных видов, они не опасны для теплокровных животных и человека.

Бактерии, отнесенные к роду *Methylobacterium*, были ранее нами выделены с поверхности листьев и из почек березы, клена, сирени, из семян и неспелых зерновок озимой ржи, тритикале, ячменя, из ризосферы бобовых и зерновых культур, из почвы, на которой эти растения произрастали. Наряду с высшими растениями источниками для выделения метилотрофных бактерий служили печёночный мох *Scapania nemorosa*, поверхность ряда лишайников и плёнки почвенных водорослей. Последующая обработка растений ассоциативными метилотрофными бактериями оказывала протекторное действие на рост и развитие растений, в т.ч. подвергнутых абиотическим стрессам. В связи с этим перспективен поиск новых эффективных штаммов этих микроорганизмов для использования в современных биотехнологиях регуляции роста и морфогенеза растений *in vitro*, а также повышения адаптивности и продуктивности сельскохозяйственных культур *in vivo*.

В настоящей работе объектами изоляции метилотрофных бактерий служили спорокарпы грибоподобных протистов – миксомицетов (MYXOGASTRIA). В микроскопических препаратах, приготовленных из спорокарпов, постоянно обнаруживаются грамотрицательные подвижные бактерии, которые растут на минеральной среде с метанолом. Эти бактерии были предварительно идентифицированы как представители рода *Methylobacterium*. Изучение фитостимулирующей активности выделенных из миксомицетов метилотрофных бактерий явилось целью наших исследований.

Из спорокарпов миксомицетов *Trichia decipiens*, *Hemitrichia serpula* и *Lycogala epidendrum*, а также из субстрата (гниющая древесина) на минеральном агаре с 2 об. % метанола было изолировано 62 штамма метилотрофных бактерий. Все штаммы были протестированы с применением реактива Сальковского на способность к синтезу ауксинов (индольных соединений) в присутствии 200 мг/л триптофана. Продукция ауксинов за 72 час у отдельных штаммов изменялась в пределах от 9,7 до 20,2 мкг/мл. В среднем более высокой продукцией ауксинов характеризовались метиловы бактерии, изолированные из субстрата (16,2 мкг/мл) и спорокарпов *H. serpula* (15,4 мкг/мл). Штаммы метилотрофных бактерий, изолированные из спорокарпов *T. decipiens* синтезировали индольные соединения в количестве от 10 до 13 мкг/мл.

На следующем этапе скрининга 12 штаммов метилотрофов, синтез индольных соединений у которых составил более 15 мкг/мл, были протестированы на проростках пшеницы в водно-бумажной рулонной культуре. Для этого семена замачивали на 12 час в жидких культурах (ЖК) в разведениях 1:10 и 1:100 бактерий, выращенных в жидкой минеральной среде с метанолом. У 5-ти суточных проростков измеряли длину ростка, корня и сухую биомассу. В результате установлено, что наибольшей фитостимулирующей активностью обладали штаммы 24 нт, 27 нт и 28 нт, изолированные из спорокарпов миксомицета *H. serpula*. Метаболиты, содержащиеся в культуральной жидкости этих штаммов, способствовали увеличению длины корня на 20-35%, длины ростка на 42-50% и приросту сухой биомассы на 40-53% к контролю. Максимальный ростстимулирующий эффект, как правило, проявлялся при использовании разведения ЖК 1:100. Водорастворимые метаболиты штаммов 41L и 42L, изолированных из спорокарпов *L. epidendrum*, в меньшей степени стимулировали рост проростков (длины корня на 14-25%, длины ростка на 17-33%, биомассы на 14-26%). Максимальный эффект обработки метаболитами бактерий в этом случае наблюдали при разведении ЖК 1:10. Между показателями продукции ауксинов культурами метиловых бактерий и линейными размерами бактериализованных этими культурами проростков пшеницы, корреляция не прослеживалась. Связь между показателями продукции метиловых бактериями ауксинов и сухой биомассы бактериализованных ими проростков оценивалась как слабая достоверная.

Таким образом, в результате исследований установлено, что спорокарпы грибоподобных протистов можно рассматривать в качестве специфического источника получения бактериальных изолятов с фиторегуляторными свойствами. Метилотрофные бактерии из спорокарпов миксомицетов стимулируют рост проростков пшеницы и обладают способностью синтезировать фитогормоны ауксиновой природы. Наиболее эффективные штаммы бактерий получены из спорокарпов миксомицета *H. serpula*, обитающего в лесных экосистемах на разлагающихся древесных остатках.



**Масличность и состав жирных кислот липидов семян мутантных линий рапса (*Brassica napus* L.)****Широкова А.В., Жуков А.В. \*, Пчёлкин В.П. \*, Цыдендамбаев В.Д. \***ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, ул. Вавилова, д. 26, Москва, Россия  
[grandularia@yahoo.com](mailto:grandularia@yahoo.com)\*ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Ботаническая ул., 35, Москва, Россия  
[vdt@ippras.ru](mailto:vdt@ippras.ru)

Объём ежегодного мирового производства рапсового масла, входящего в тройку наиболее широко используемых растительных масел, составляет около 25 млн. т. Создание безэруковых и низкоглюкозинолатных сортов позволяет применять рапс в пищевых целях, что делает его главной масличной и кормовой культурой нескольких десятков стран мира. По составу жирных кислот (ЖК) семена рапса можно считать одним из лучших источников растительного масла. В их селекции сейчас превалирует создание новых сортов рапса не только с наибольшей масличностью, но и с заданным составом ЖК. Пищевая промышленность использует и салатное масло, и масло для жарения. В первом из них должно быть высокое содержание незаменимой линолевой ( $C_{18:2}$ ) кислоты, тогда как во втором – максимальный уровень олеиновой ( $C_{18:1}$ ), который позволяет фритюрным жирам оставаться стабильными при длительном нагревании. Растущие запросы производства требуют целенаправленной селекции новых линий сортов рапса, которые обладали бы не только максимальной масличностью и увеличенным содержанием суммы  $C_{18:1}$  и  $C_{18:2}$ , но и невысоким уровнем линоленовой ( $C_{18:3}$ ) кислоты, а также низкими концентрациями насыщенных ЖК – пальмитиновой ( $C_{16:0}$ ) и стеариновой. Наиболее перспективные линии рапса не должны включать специфичных для крестоцветных ЖК — гадолеиновой и эруковой. Сбор урожая требует скороспелых и неполегающих сортов рапса с компактными кустами и устойчивыми к растрескиванию стручками, поэтому необходима целенаправленная селекция новых, высокопродуктивных сортов рапса с этими признаками. Целью нашей работы были дальнейшая селекция безэруковых сортов рапса отечественной селекции и получение новых линий рапса с ценными морфологическими признаками и высокой масличностью семян, а также с желаемым набором ЖК. При этом *качественный* состав ЖК семян перспективных мутантных линий рапса должен быть по-прежнему сохранён на уровне исходного сорта. Для индуцирования изменчивости этих линий одновременно в нескольких направлениях был использован химический мутагенез с участием водных растворов трёх мутагенов – этилметансульфоната (ЭМС), диметилсульфата (ДМС) и диэтилсульфата (ДЭС). В качестве исходного объекта для исследований был выбран урожайный безэруковый и безглюкозинолатный слабо растрескивающийся сорт Викрос. Контрольный образец промывали водой. Семена рапса (по 150 шт.) обрабатывали 0.02 ÷ 0.3%-ными водными растворами ЭМС, ДМС и ДЭС, затем промывали, подсушивали и высевали в ячейки с перлитом. Сеянцы в фазе двух семядольных листьев пикировали в горшочки, рассаду высаживали в грунт. В начале цветения целые соцветия или их часть помещали в изоляторы из лутрасила. При использовании ЭМС, ДМС и ДЭС на первом этапе работы были получены 66 мутантных линий отдельных форм рапса с такими изменёнными морфологическими признаками, характерными для различных видов сем. Капустные, как сильное ветвление (побеги 4-го и 5-го порядков), антоциановую окраску побегов, желтоватые жёстко опушенные листья, короткие стручки с перетяжками, бледную окраску цветков, коричневые семена и растянутый период созревания. Пробы семян отдельных линий рапса измельчали и смешивали с 0.5 мг маргариновой кислоты. Липиды превращали в метиловые эфиры ЖК, которые разделяли с помощью ГЖХ-МС. Устойчивое повышение масличности семян на 10% с сохранением характеристик безэрукового сорта в поколении  $M_2$  отмечено после обработки 0.02 и 0.25%-ными растворами ЭМС и 0.06%-ным раствором ДМС. Из всех мутантов для дальнейшей работы были отобраны несколько линий наиболее высокомасличных растений с компактным прочным габитусом и со стручками, прикрепленными к побегам под острым углом, а также линии растений с нерастрескивающимися длинными, многосемянными или широкими стручками, их неполегающие скороспелые низкорослые формы и формы, по комплексу признаков сходные с сурепицей. Мутагены у ярового рапса индуцировали многочисленные изменения, причем не единичные, а множественные. Самый широкий набор изменений морфологических признаков наиболее характерен для семян рапса, обработанных ЭМС; наиболее эффективное воздействие на состав их липидов оказал ЭМС в концентрации 0.03%: все линии  $M_1$  отличались пониженным содержанием  $C_{18:3}$ . Наиболее обогащёнными  $C_{16:0}$  оказались некоторые линии  $M_1$  после выдержки семян в растворах ЭМС, а также линии  $M_4$  после обработки семян 0.02%-ным раствором ДМС. Во всех исследованных образцах последних соотношение между индивидуальными видами ЖК заметно изменилось, причём содержание  $C_{18:2}$  в данных образцах возросло в среднем на 20% по отношению к контролю. В случае линий  $M_4$  растений с самыми длинными стручками концентрация  $C_{18:1}$  составляла 63-66%. Тот же результат получен для линий  $M_4$  после воздействия на исходные семена 0.04%-ным раствором ЭМС. После выдержки семян в растворах ЭМС концентрация  $C_{18:1}$  в липидах семян линий  $M_4$  всегда находилась на одном и том же уровне. В результате обработки 0.03%-ным раствором ЭМС в них отмечено всего лишь 57%  $C_{18:1}$ , а после воздействия ЭМС для всех линий повышенной компактности и скороспелости была характерна повышенная концентрация  $C_{18:2}$  (до 25%). Наивысшей масличностью ( $\geq 45\%$ ) отличались именно те линии  $M_{1-4}$  рапса, семена которых были обработаны низкими концентрациями ДМС и ЭМС.

## Влияние инокуляции арбускулярно-микоризным грибом *Rhizophagus irregularis* на рост и развитие растений гороха посевного (*Pisum sativum* L.)

Штарк О.Ю.\*\*\*, Клюкова М.С.\*\*\*, Авдеева Г.С.\*\*\*, Хайруллина М.М.\*\*\*, Юрков А.П.\*\*\*, Жуков В.А.\*,  
Шишова М.Ф.\*\*

\* Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, ш. Подбельского, д. 3, г. Пушкин, Санкт-Петербург, Россия

\*\* Биологический факультет Санкт-Петербургского государственного университета, Университетская наб., д. 7-9, Санкт-Петербург, Россия  
[oshtark@yandex.ru](mailto:oshtark@yandex.ru)

Арбускулярная микориза (АМ) – корневой эндосимбиоз, образуемый подавляющим большинством наземных растений с грибами фило Glomeromycota. Основной функцией АМ у растений является обеспечение симбиотического пути усвоения фосфата ( $P_i$ ). Поддержание растением грибного симбионта требует существенных энергетических затрат (фотосинтатов). Известно, что в зависимости от пары «растение – арбускулярно-микоризный гриб (АМГ)» и доступности элементов питания может наблюдаться целый спектр взаимоотношений от мутуализма до патогенеза. В данной работе впервые проведена оценка активности фотосинтетического аппарата у гороха (*Pisum sativum*) в онтогенезе растения при одновременном анализе параметров развития арбускулярной микоризы (АМ) и сопоставление их динамики с основными физиологическими этапами развития растения.

Растения гороха сорта Finale были выращены в климатической камере в горшках с обедненным почвосодержащим субстратом в условиях инокуляции АМГ *Rhizophagus irregularis* (изолят ВЕГ144) и без инокуляции при подкормке минеральным раствором без доступного  $P_i$ . Биометрические показатели растений оценивали на 7, 21, 32, 42 и 56-й день после инокуляции (ДПИ), а также в фазу полной спелости. Параллельно проводили оценку функционального состояния фотосинтетического аппарата самого верхнего полностью сформировавшегося листа с использованием метода индукции флуоресценции хлорофилла. Для анализа из обоих вариантов эксперимента отбирали растения, находящиеся в одинаковой стадии онтогенеза.

У растений, инокулированных *R. irregularis*, наблюдалось постепенное повышение интенсивности микоризации корней ( $M\%$ ) и обилия везикул и спор в микоризованных отрезках корней ( $v\%$ ). Интенсивность развития арбускул в микоризованных фрагментах корней ( $a\%$ ), постепенно повышалась в процессе вегетации и достигала максимума к 32 ДПИ (за 10-12 дней до начала цветения), а затем снижалась, что соответствовало нормальной динамике развития АМ у гороха. Инокуляция *R. irregularis* приводила к замедлению перехода растений в очередную стадию онтогенеза. Наиболее существенно развитие микоризы (в одной из наиболее активных фаз – 32 ДПИ) отразилось на формировании листьев. Так, у микоризованных растений число полностью сформировавшихся листьев было достоверно ниже на этом сроке по сравнению с вариантом без инокуляции, что, вероятно, связано с необходимостью дополнительных затрат углерода для интенсивного формирования симбиоза. Начало цветения у растений, инокулированных *R. irregularis*, наблюдалось, в среднем, на 3 дня позже (40 ДПИ) по сравнению с вариантом без инокуляции (37 ДПИ). Также у микоризованных растений наблюдалось более позднее завязывание плодов, что было отмечено, начиная с 42 ДПИ. Вегетация растений в контрольном варианте продолжалась, в среднем, 90 суток, в варианте с инокуляцией *R. irregularis* – на 2-3 недели дольше. Начиная с 21 ДПИ, наблюдалась тенденция к снижению массы корневой системы гороха и длины стебля при инокуляции АМГ по сравнению с вариантом без инокуляции. Соотношение масс надземной части и корневой системы у растений гороха, напротив, имело тенденцию к повышению при инокуляции АМГ по сравнению с вариантом без инокуляции. У вегетирующих микоризованных растений наблюдалось активное формирование дополнительных бутонов и, иногда, бобов в пазухах листьев. Более низкое соотношение масс надземной части и корневой системы и практически полное отсутствие боковых бутонов у неинокулированных растений может свидетельствовать о более интенсивной продукции растительных гормонов стриголактонов в ответ на дефицит  $P_i$ . Оценка биометрических показателей растений в фазе полной спелости показала, что инокуляция *R. irregularis* не оказала влияния на накопление сухой биомассы надземной части растений, однако привела к достоверному увеличению массы одного семени (на 20,7%). Также наблюдалась тенденция к увеличению массы семян одного растения в результате инокуляции (в среднем, на 34,4%). В целом, инокуляция *R. irregularis* не повлияла на функциональное состояние фотосинтетического аппарата, которое в большей степени зависело от стадии онтогенеза растений.

Таким образом, показано, что инокуляция растений гороха *R. irregularis* способна приводить к замедлению онтогенеза растений и продлению периода вегетации, позволяя сформировать более крупные семена. При этом микоризация не оказывала существенного влияния на большинство других биометрических показателей растений и активность фотосинтеза. Анализ изменений метаболома корней, листьев и других надземных частей исследуемых растений позволит выявить новые закономерности, характеризующие влияние микоризации на рост и развитие растений гороха.

Исследование поддержано грантами СПбГУ (1.37.534.2016) и РФФИ (16-04-01859).

## Роль $K^+$ в солеустойчивости галофитов семейства *Chenopodiaceae*

Шуйская Е.В., Рахманкулова З.Ф.

ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва  
[evshuya@mail.ru](mailto:evshuya@mail.ru)

Исследовали четыре вида сем. *Chenopodiaceae*, отличающихся по устойчивости к засолению и принадлежащих к разным типам фотосинтеза и энзиматическим группам: *Atriplex verrucifera* ( $C_3$ ), *A. tatarica* ( $C_4$  НАД-МЭ), *Kochia prostrata* ( $C_4$  НАДФ-МЭ) и две популяции (Макан и Подольск) *Sedobassia sedoides* (промежуточный  $C_3$ - $C_4$ ). Представители популяций Макан и Подольск различаются по продуктивности и принадлежности к  $C_3$ - $C_4$  подтипу. Растения популяции Макан имеют прото-Кранц подтип фотосинтеза (ближе к  $C_3$ ), а популяции Подольск -  $C_2$  фотосинтез (между  $C_3$  и  $C_4$  типом фотосинтеза). Большинство галофитов сем. *Chenopodiaceae*, в том числе и исследованные в настоящей работе, являются соленакопителями. Целью данной работы было исследование роли  $K^+$  в солеустойчивости галофитов семейства *Chenopodiaceae*. Было установлено, что наиболее устойчивым к засолению, является  $C_3$  вид *Atriplex verrucifera*, который характеризуется положительной зависимостью накопления сухого веса побегов от содержания в них  $K^+$ . При стрессе у данного вида наблюдается накопление пролина, который отрицательно коррелирует с ростом растений. К типичным  $C_4$  растениям можно отнести *Atriplex tatarica* (с аспаргатовым НАД-МЭ подтипом), вид, произрастающий на слабо засоленных территориях и характеризующийся неконтролируемым соленакоплением. Содержание пролина при стрессе у него положительно коррелирует с интенсивностью роста. Растениям *A. tatarica* характерно относительно низкое общее содержание флавоноидов, количество которых положительно коррелирует с содержанием натрия и отрицательно – с содержанием калия в надземной части растений. У видов с контролируемым соленакоплением *Kochia prostrata* ( $C_4$  с малатным НАДФ-МЭ подтипом фотосинтеза) и *Sedobassia sedoides* (с промежуточным  $C_3$ - $C_4$  типом фотосинтеза) антиоксидантную функцию в большей степени выполняют флавоноиды, а не пролин. У данных видов показана положительная зависимость общего содержания флавоноидов от концентрации в побегах  $K^+$ . Выявлено сходство между более солеустойчивыми видами *S. sedoides* (популяция Макан,  $C_3$ - $C_4$  с прото-Кранц подтипом фотосинтеза,) и *A. verrucifera* ( $C_3$ ), у которых высокое содержание ионов калия и флавоноидов является показателем высокой продуктивности и адаптированности к условиям обитания. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ «17-04-00853-а».

## Микроклональное размножение сосны сибирской через соматический эмбриогенез в культуре *in vitro*

Шуклина А.С.

Институт леса им. В.Н.Сукачева ФИЦ КНЦ СО РАН, Академгородок, 50/28, Красноярск, Россия  
[culture@ksc.krasn.ru](mailto:culture@ksc.krasn.ru)

Сосна сибирская или кедр сибирский (*Pinus sibirica* Du Tour) – вид сосен подрода *Strobus* (пятихвойные сосны), является наиболее ценным древесным видом таежной зоны. Его особое место определяется высокой природной и хозяйственной значимостью урожаев семян, но данный вид также подвергается интенсивной коммерческой вырубке. Вместе с тем естественное возобновление кедра сибирского затруднено из-за специфичности его половой репродукции, которая отличается от других представителей семейства *Pinaceae*. Поэтому для сохранения кедра, в том числе его уникальных форм (как например кедр-акселерат с однолетним циклом развития женских шишек) технология микроклонального размножения через соматический эмбриогенез становится весьма перспективной. Как сообщается в литературе, к настоящему времени эмбриогенные культуры были индуцированы у 27 видов рода *Pinus* и у более половины из них получены растения-регенеранты. Для индукции соматического эмбриогенеза в период с 2 июня по 10 июня 2016 года в окрестностях г. Красноярска, до начала пыления, были собраны микростробилы сосны сибирской и введены в культуру *in vitro*. При введении в культуру микростробилы стерилизовали в гипохлорите натрия в течение 15 минут. В условиях ламинар-бокса микростробилы разрезались в продольном сечении и помещались срезом вниз на питательную среду по 4 экспланта в колбу. В качестве питательной среды использовалась базовая питательная среда LV с пониженной в четыре раза концентрацией макроэлементов, дополненная сахарозой (30г/л), гидролизатом казеина (0,5 г/л), мезоинозитом (1 г/л). В качестве регуляторов роста в одном варианте использовали только 2,4-Д (2,4 – дихлорфеноксиуксусную кислоту) с концентрацией 0,8мг/л, во втором варианте комбинацию 2,4-Д с концентрацией 1мг/л и 6-БАП (6-бензиламинопурин) с концентрацией 0,5мл/л, рН среды доводили до 5,7 перед автоклавированием. Всего в культуру было введено 200 микростробилов.

Было обнаружено, что формирование эмбрионидов из эксплантов микростробилов идет по такому же пути как и у макростробилов. Образование каллуса из микростробилов наблюдалось на 14-16 сутки культивирования, но только у эксплантов собранных 2 июня. У эксплантов собранных на неделю позже наблюдалось прорастание пыльцы, то есть клетки экспланта уже теряли компетентность к соматическому эмбриогенезу. На 30-е сутки культивирования был проведен цитологический анализ культур, который показал растяжение соматических клеток микростробилов. Каллусы сохраняли свою жизнеспособность в течение 6 месяцев, а затем некротизировали. Кроме того в первой декаде июля 2016 года были собраны макростробилы сосны сибирской. Сбор женских шишек проводился на клоновых кедровых плантациях и в естественном древостое Ермаковского района Красноярского края. Всего было введено в культуру около 1000 зиготических зародышей женских шишек с 23 деревьев. В качестве экспланта использовались зиготические зародыши, которые стерилизовались в гипохлорите натрия в течение 15 минут, промывались три раза в дистиллированной стерильной воде, а затем извлекались из мегагаметофитов в условиях ламинар-бокса и помещались на питательную среду LV с пониженной в два раза концентрацией макроэлементов, дополненную сахарозой (30г/л), гидролизатом казеина (0,5 г/л), мезоинозитом (1 г/л) глютамином (1г/л) и аскорбиновой кислотой (0,3 г/л). Также использовалась базовая питательная среда DCR дополненная сахарозой (30г/л), гидролизатом казеина (1 г/л), мезоинозитом (1 г/л), глютамином (0,5г/л) и аскорбиновой кислотой (0,3 г/л). В качестве регуляторов роста для обеих сред использовали комбинацию 2,4-Д и 6-БАП в концентрациях 2мг/л и 1мг/л соответственно, рН среды доводили до 5,7 перед автоклавированием. На стадии пролиферации использовали такие же питательные среды, но с пониженным содержанием сахарозы (20г/л) и 6-БАП (0,5 г/л).

Результаты исследования показали, что при введении в культуру *in vitro* эксплантов на предсемядольной стадии развития зиготического зародыша, когда его длина составляла 2 мм (I декада июля), в области зародышевого корешка наблюдалось образование каллуса на 4-10 сутки культивирования.

Из 1000 эксплантов (зиготических зародышей), собранных с 23 деревьев, каллус был индуцирован у 30% зародышей. При этом на индукцию оказал влияние генотип дерева-донора, в то время как питательная среда не оказывала достоверного влияния на формирование каллуса. Цитологический анализ культур показал растяжение соматических клеток. С последующей пересадкой на среду пролиферации у эксплантов деревьев №26 и №10 удлинненные клетки претерпевали асимметричное деление и формировали эмбриональную инициаль и эмбриональную трубку. Из инициальных клеток образовывались глобулы соматических зародышей, а из эмбриональных трубок формировались сложные вытянутые структуры с перегородками. Через 3 пассажа, каллусы 42,5% деревьев полностью отмирали, при цитологическом анализе эмбриональных структур не обнаруживалось, каллус вырождался. На настоящий момент (10 месяцев в культуре) продолжают сохранять жизнеспособность 4,2 % неэмбриогенных каллусов.

Исследование выполнено при поддержке краевого государственного автономного учреждения «Красноярский краевой фонд поддержки научной и научно-технической деятельности» в рамках участия в мероприятии: «Научная конференция и школа для молодых ученых «Экспериментальная биология растений: фундаментальные и прикладные аспекты».

## Цитофизиологические особенности популяции каллусных клеток *Melissa officinalis* L. в цикле выращивания

Якимова О.В., Егорова Н.А.

ФГБУН «НИИ сельского хозяйства Крыма», ул. Киевская, 150, г. Симферополь, Россия  
[olyyakimova@yandex.ru](mailto:olyyakimova@yandex.ru)

Мелисса лекарственная (*Melissa officinalis* L.) – лекарственное, эфиромасличное и пряно-ароматическое растение. Ее широко используют во многих отраслях экономики, а также в медицине. Лечебные свойства мелиссы обусловлены наличием в надземной части растения ценного эфирного масла, содержание которого в сырье большинства образцов невелико (0,02–0,30% на сухой вес). В связи с этим в НИИСХ Крыма ведется селекционная работа по созданию новых высокомасличных сортов мелиссы. Для проведения селекции на современном уровне эффективно привлечение современных биотехнологических методов, позволяющих получить новый исходный селекционный материал. Наиболее распространенными клеточными технологиями, способствующими расширению генетического разнообразия, являются клеточная селекция, мутагенез *in vitro* и индукция соматональной вариабельности. Однако для разработки таких биотехнологий, прежде всего, необходимо оптимизировать методику длительного пассирования каллуса и изучить особенности процесса каллусогенеза. Для мелиссы, судя по имеющимся данным, методики длительного культивирования каллуса мало разработаны. В литературе освещены различные аспекты микроразмножения мелиссы *in vitro* и имеются отдельные данные о культивировании клеток, в основном с целью получения продуктов вторичного метаболизма.

В связи с этим целью нашего исследования была оптимизация условий длительного культивирования каллуса и анализ цитофизиологических параметров популяции каллусных клеток мелиссы в цикле выращивания. Материалом для исследования служили ткани и органы растений *M. officinalis* сорта Цитронелла. В качестве инициальных эксплантов использовали сегменты листа, стебля, черешка, гипокотили и семядолей. Масса транспланта при пассировании каллуса составляла 80-85 мг. Анализ цитофизиологических параметров проводили на 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 20, 25, 30, 35, 40, 45-е сут культивирования, при этом определяли динамику изменения массы и плотности каллуса, жизнеспособности клеточной популяции, соотношения различных типов клеток в цикле выращивания.

При культивировании разных типов эксплантов установлено, что на большинстве питательных сред индукция каллусогенеза отмечали на 10-14 сут культивирования. Изучено влияние гормонального состава питательной среды и типа экспланта на процесс индукции каллусогенеза. Максимальная частота образования каллуса (до 92,9%) с хорошим приростом была отмечена при использовании в качестве эксплантов сегментов листа и черешка на питательной среде Мурасиге и Скуга (МС), дополненной 1,0 мг/л НУК или 2,4-Д и 0,5 мг/л 6-БАП. Хороший прирост каллусной ткани был также отмечен из эксплантов гипокотилей и семядолей. При оптимизации условий длительного пассирования каллуса мелиссы лучшие результаты были получены при использовании среды МС, дополненной 1,0 мг/л 2,4-Д и 0,5 мг/л БАП. При этом в течение 10-ти пассажей наблюдали активную пролиферацию каллуса. Максимальный ростовой индекс каллусных культур, полученных из разных типов эксплантов, был отмечен в 9–10-м пассажах.

Для анализа цитофизиологических параметров использовали каллус мелиссы, полученный из семядолей. Цитологический анализ каллусной ткани позволил выделить основные морфологические типы клеток – паренхимные и меристематические. Паренхимные клетки в свою очередь разделяли на три типа: округлые, гигантские и удлиненные. При анализе динамики изменения массы каллуса было показано, что накопление биомассы каллуса в течение цикла выращивания характеризовалось S-образной кривой. В течение первых 10-ти сут культивирования масса каллуса практически не увеличилась, что соответствует лаг-фазе ростового цикла. В течение этого периода жизнеспособность клеточной популяции была существенно снижена, что, вероятно, связано с травматическим действием пересадки и адаптацией ткани. На 10-е сут культивирования отмечали достоверное увеличение массы каллуса до 108,7 мг, а жизнеспособность клеточной популяции возростала до 62,2%. Клеточная популяция вступила в экспоненциальную (логарифмическую) фазу роста, которая продолжалась до 20-х сут. Вследствие интенсивного деления клеток в этот период увеличилось их количество на единицу массы. На 12–16-е сут культивирования было выявлено максимальное содержание меристематических клеток (49,9%) в каллусной ткани, что связано с активными делениями клеток. В этот период была также отмечена максимальная плотность клеточной популяции (4488,5 кл./мг). На 20-35-е сут культивирования клеточная популяция перешла в фазу линейной роста. При этом отмечали активный прирост массы каллусной ткани, который происходил в основном за счет растяжения клеток. В этот период было отмечено снижение плотности клеточной популяции до 3424,4 кл./мг. На 35-е сут культивирования происходил переход клеточной популяции в стационарную фазу роста. При этом прекращался достоверный прирост массы каллуса, уменьшалась до 37,6% жизнеспособность клеточной популяции. Снижалось число меристематических и увеличивалось количество паренхимных клеток (в том числе гигантских до 23,2%).

В результате проведенных исследований установлены особенности роста популяции клеток мелиссы в течение цикла выращивания каллусной культуры. Определена длительность фаз ростового цикла, что является важным аспектом для разработки методических приемов культивирования клеток и тканей *in vitro*.

## **Влияние интенсивности свкта узкополоствых светодиодов на рост и развитие однолетних салатных растений семейства Астровых (*Asteraceae*) и Крестоцветные (*Cruciferae*)**

*Яковлева О.С., Берегова М.С., Тараканов И.Г.*

ФГБОУ ВО Российский государственный аграрный университет - МСХА имени К.А. Тимирязева 127550,  
Тимирязевская 49, кафедра физиологии растений, Москва, Россия  
[plantphys@timacad.ru](mailto:plantphys@timacad.ru)

В последнее время расширяются исследования по использованию в качестве источников облучения растений в закрытом грунте светоиспускающих диодов, в том числе и узкополостных. В зависимости от химического состава светодиода можно получить световой поток в заданном волновом диапазоне. Кроме того, светодиоды имеют ряд преимуществ перед другими источниками освещения: низкое энергопотребление, долговечность и экологичность..

Цель наших экспериментов – это оценка влияния качества света полученных от узкополостных светоиспускающих диодов на рост и развитие зеленных салатных культур.

В качестве объектов исследований были взяты салат-латук 2-х сортов: Букет и Афицион, руккола сорт Рокет,, кресс-салат сорт Забава. Растения выращивали в почвенной культуре до технологической зрелости. Освещение создавали узкополостными светодиодами красного, синего и зелёного цвета. Было четыре уровня освещённости (ППФ): 40, 60, 100 и 130 мкмоль/м<sup>2</sup>с. Контрольные растения выращивались в оранжерее при естественном освещении. В ходе экспериментов определяли накопление сырой и сухой биомассы, площадь листьев, УППЛ, скорость роста, интенсивность фотосинтеза, транспирации, устьичную проводимость, накопление фотосинтетических пигментов и содержания нитратов.

В результате проведенных экспериментов было показано, что спектральный состав источников освещения, а также интенсивность вызывают неодинаковые реакции у растений различных семейств. Изменяя параметры освещенности можно влиять на биохимический состав и показатели сырой массы растений. Светодиодные источники освещения представляются перспективными при выращивании зеленных культур некоторых семейств до фазы технологической спелости, так как обеспечивают возможность получения урожая зеленных культур, а спектральный состав и интенсивность облучения может быть подобрана, с высокой точностью, подходящая для каждого конкретного семейства и каждой фазы растений, обеспечивая максимальный экономический эффект.

В растениях салата сорта Букет, выращенных в максимальном приближении к источнику излучения при минимальной сырой массе и площади листьев выявлены самые высокие показатели по содержанию пигментов, в том числе каротиноидов. Ассимиляционная поверхность растений данного сорта, выращенные при максимальной интенсивности искусственного освещения в 2 раза больше, а сырая биомасса на 40% больше, чем у растений, выращенных при низком искусственном освещении.

У растений салата латук сорта Афицион, выращенных при максимальной освещенности, наблюдаются самые высокие показатели пророста сырой, сухой биомассы за счет образования большего количества листьев, а также наименьшее накопление в листьях нитратов.

Салатные растения, семейства Крестоцветных, при выращивании под искусственным освещении, созданным светоиспускающими светодиодами значительно отставали в росте и развитии от контрольных растений.

Благоприятное действие искусственной среды с использованием светоиспускающих диодов на растения обоих изучаемых семейств можно использовать при выращивании рассады салатных растений в производстве зеленных культур.

Таким образом, в работе показана принципиальная возможность выращивания зеленных растений семейства Астровых и Крестоцветных до фазы технологической спелости с применением светодиодных источников освещения.

## Два пути фотообразования органических гидропероксидов на донорной стороне фотосистемы 2 в субхлоропластных мембранных фрагментах

*Яныкин Д.В., Хоробрых А.А., Терентьев В.В., Климов В.В.*

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Институтская ул., 2, Пущино, Московская область, Россия  
[ya-d-ozh@rambler.ru](mailto:ya-d-ozh@rambler.ru)

Ранее в препаратах фотосистемы 2 (ФС2) с разрушенным водоокисляющим комплексом (ВОК) (препараты апо-ВОК-ФС2) было обнаружено фотообразование органических гидропероксидов (через взаимодействие органических радикалов, образованных благодаря окислительно-восстановительной активности  $P_{680}^{++}$  (или  $TyrZ'$ ), с молекулярным кислородом), которое не ингибируется каталазой. Представленная работа описывает второй путь фотообразования органических гидропероксидов на донорной стороне ФС2. Показано, что освещение мембранных препаратов ФС2, обработанных 1 М  $CaCl_2$  (лишённых внешних белков без удаления Mn-содержащего кластера ВОК) (препараты  $CaCl_2$ -ФС2) приводит к фотообразованию высоколипофильных органических гидропероксидов (LP-ООН) (в количестве соответствующему 1,5 LP-ООН на один реакционный центр ФС2), которое значительно возрастает при добавлении экзогенного акцептора электрона феррицианида калия (до 4,2 LP-ООН на один реакционный центр). Добавление каталазы до освещения ингибирует феррицианид-индуцированное фотообразование гидропероксидов, в то время как добавление каталазы после освещения или инактивированной каталазы до освещения не оказывает никакого действия. Фотообразование гидропероксидов ингибируется при добавлении экзогенного донора электрона для ФС2 (дифенилкарбазида) или диурона (ингибитора переноса электрона в ФС2). Добавление экзогенного пероксида водорода к  $CaCl_2$ -ФС2 приводит к образованию высоколипофильных органических гидропероксидов в темноте (3,2 LP-ООН на один реакционный центр). Предполагается, что образование высоколипофильных органических гидропероксидов в  $CaCl_2$ -ФС2 препаратах происходит в результате окислительно-восстановительной активности  $H_2O_2$ , образующегося на донорной стороне ФС2.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 14-14-00535).

## Влияние салициловой и жасмоновой кислот на экспрессию генов PR-белков в проростках пшеницы при заражении возбудителем твердой головни

Яруллина Л.Г.\*\*\*, Ахатова А.Р.\*\*\*, Яруллина Л.М.\*\*\*, Касимова Р.И.\*

\*Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, проспект Октября, 71, Уфа, Россия

\*\*Башкирский государственный университет, Заки Валиди, 32, Уфа, Россия

\*\*\*Башкирский государственный медицинский университет, ул. Ленина, 34, Уфа, Россия

[yarullina@bk.ru](mailto:yarullina@bk.ru)

Индукция защитного ответа в растениях осуществляется с помощью различных сигнальных систем, в которых роль вторичных мессенджеров могут выполнять салициловая (СК) и жасмоновая (ЖК) кислоты, перекись водорода ( $H_2O_2$ ) и ряд других молекул. Как известно, стратегия защитного ответа растительного организма во многом определяется типом пищевой специализации грибов. Возбудитель твердой головни грибок *Tilletia caries* (DC.) Tull относится к типичным патогенам с биотрофным типом питания. Механизмы индукции защитного ответа растений к головневым грибам под воздействием СК и ЖК до конца не раскрыты. Установлено, что предобработка инфицированных растений злаков ЖК вызывает значительное усиление активности ферментов-ингибиторов протеиназ, экзогенное воздействие на растения салициловой кислоты усиливает продукцию АФК. Причем, оба эти соединения повышают устойчивость растений пшеницы к инфицированию *T. caries in vivo* и *in vitro*.

Цель данной работы - изучение влияния СК и ЖК на экспрессию генов защитных белков, таких как оксалактоксидаза (ОхО), пероксидаза (ПО), ингибитор протеиназы (ИП), в растениях пшеницы при заражении *T. caries*. Перед посевом семена *T. aestivum* L. сорта Жница замачивали (3 ч) в растворах СК и ЖК в концентрациях 0,05 мМ и  $10^{-7}$ М соответственно. Проклюнувшиеся семена опудривали сухими спорами *T. caries* из расчета 1 г спор на 100 семян, высаживали в вазоны, выдерживали 3 сут во влажной камере при температуре 10 – 15<sup>0</sup>С. Через 7 суток после инокуляции оценивали степень пораженности проростков и экспрессию в растительных тканях генов PR-белков. РНК из растений выделяли с помощью тризола (Molecular Research Center, Inc., США). Для получения кДНК на основе мРНК изучаемых образцов проводили реакцию обратной транскрипции с использованием M-MuLV обратной транскриптазы согласно протоколу фирмы-поставщика. В качестве положительного контроля использовали ПЦР гена, кодирующего конститутивно экспрессирующийся тубулин. С помощью программы «Primer Select» (DNASar) были подобраны высокоспецифичные праймеры к гену оксалактоксидазы (AJ556991.1), анионной пероксидазы (TC 151917), ингибитора протеиназ (EU 293132.1), фланкирующие фрагменты ДНК размером 410, 157, 106 п.н. соответственно. Экспериментальным путем были подобраны условия проведения ПЦР. Компьютерный анализ аминокислотных и нуклеотидных последовательностей проводили с помощью пакета компьютерных программ Lasergene фирмы «DNASTAR, Inc» (США). Статистическая обработка результатов проводилась с использованием компьютерных программ StatSoft (Statistica 6.0).

Исследования показали, что в вариантах опыта с предобработкой растений СК и ЖК количество заболевших проростков снижалось в среднем на 20 % в сравнении с необработанным контролем. СК и ЖК оказывали стимулирующее действие на транскрипционную активность гена ОхО, как в здоровых проростках пшеницы, так и при инфицировании *T. caries*, что положительно отражалось на активности фермента. Основной функцией ОхО является участие в деградации щавелевой кислоты, которая у многих патогенных грибов является эффективным фактором вирулентности. С другой стороны, образующаяся при этом  $H_2O_2$ , как сигнальная молекула, способна индуцировать экспрессию генов защитных белков. В наших исследованиях предобработка растений СК и ЖК оказывала индуцирующее действие на транскрипционную активность гена ПО. Причем, как и в случае с ОхО, был выявлен более значительный стимулирующий эффект СК на активность ПО в сравнении с ЖК. Основными механизмами патогенности микроорганизмов являются гидролазы, в частности протеиназы. Подавление активности гидролаз специфическими ингибиторами является одним из эффективных барьеров, стоящих на пути проникновения и распространения фитопатогенов в растениях. Обнаружено, что на 7 сутки после инокуляции спорами *T. caries* активность протеиназ в coleoptilyах пшеницы незначительно понижалась. При предобработке СК и ЖК гидролитическая активность также снижалась, что, вероятно, было обусловлено повышением антигидролитической активности в растительных тканях. Предобработка сигнальными молекулами при инфицировании вызывала снижение активности гидролаз. Снижение протеолитической активности было связано с индуцирующим эффектом СК и ЖК на экспрессию гена ИП. Причем, наибольшее усиление экспрессии гена ИП наблюдалось в варианте с предобработкой ЖК. Таким образом, предпосевная обработка СК и ЖК способствовала повышению устойчивости пшеницы к *T. caries* в результате стимулирующего действия на активность защитных белков в растительных тканях. Причем, в активации транскрипционной активности генов ОхО AJ556991 и ПО TC 151917 более эффективна была СК. Напротив, ЖК оказывала значительный стимулирующий эффект на транскрипционную активность гена ИП EU 293132.1. Выявленные различия в активации индивидуальных защитных белков свидетельствовали о дифференциальном механизме воздействия СК и ЖК на защитный потенциал растений пшеницы при инфицировании *T. caries*.



## Материалы круглого стола

# "Инновационные подходы в университетском образовании в области экспериментальной биологии растений"

## Использование растений в качестве тест-объектов биоиндикации при изучении экологических дисциплин

Гордеева И.В.

Уральский государственный экономический университет, г. Екатеринбург 620102, ул. Гурзуфская, 16, кв. 61, 8-922-130-86-71  
[ivgord@mail.ru](mailto:ivgord@mail.ru)

Изучение экологических дисциплин в высших учебных заведениях подразумевает сочетание изложения теоретических основ с формированием навыков практической научно-исследовательской работы, включающей использование экспериментов, позволяющих не только вовлечь студентов в процесс оценки состояния окружающей среды, но и продемонстрировать результаты антропогенного воздействия на различные биологические объекты. Биоиндикация представляет собой один из наиболее удобных методов экологического мониторинга, хотя исследования состояния экосистем с помощью данного метода не всегда отличаются высокой точностью, так как нередко не позволяют выявить конкретный загрязняющий фактор, вызывающий фиксируемую реакцию живых организмов. Это, в свою очередь, порождает некоторые проблемы в области интерпретации сделанных выводов. Однако поскольку для лабораторных исследований на занятиях важен в первую очередь качественный анализ антропогенного воздействия, то биоиндикационные методы в данном случае могут быть полезны. Обычно при выборе надлежащего биоиндикатора руководствуются следующими критериями:

- 1) выбираются эврибионтные виды;
- 2) выбранный вид должен легко идентифицироваться даже неспециалистами;
- 3) вид должен быть широко распространенным в конкретной экологической системе;
- 4) способность вида аккумулировать поллютант должна быть такой, чтобы это можно было не только выявить но и количественно оценить.

Если применить данные критерии выбора биоиндикаторов в качестве материала для лабораторных исследований на занятиях, то в качестве оптимальных объектов можно рекомендовать толерантные к урбанизированным условиям виды деревьев – тополь черный *Populus nigra*, березу повислаю *Betula pendula*, липу европейскую *Tilia europaea*. Данные виды растений устойчивы к влиянию загрязняющих факторов и проявляют специфические реакции на воздействие поллютантов, причем не представляет сложности оценить эти реакции как с качественной, так и с количественной стороны.

Основная часть исследований, осуществляемых студентами УрГЭУ на занятиях, сводится к следующему. В конце сентября - начале октября учащиеся собирают листья всех перечисленных видов деревьев в разных районах г. Екатеринбурга – парковой зоне, дворах и вдоль магистралей с интенсивным транспортным потоком. Затем в лабораторных условиях изучаются листовые пластины. Качественная оценка состояния среды производится на основании анализа листовой поверхности с целью выявления разнообразных повреждений и пятен. Известно, что повышенная концентрация в атмосфере целого ряда соединений, таких как оксиды серы и азота, вызывает появление специфических бурых пятен на листовых пластинах (некроз тканей). Так как на протяжении всего вегетационного периода листья аккумулируют содержащиеся в воздухе загрязняющие соединения, то максимальное повреждение фиксируется в период листопада. Сравнение поврежденных листьев с аналогичными объектами из экологически более благополучных условий позволяет сделать заключение сразу и о степени загрязнения атмосферы, и о влиянии последнего на растительные организмы. Во время данных занятий студенты убеждаются, что не следует сжигать опавшую с деревьев листву в городских условиях, чтобы избежать повторного поступления в атмосферу опасных соединений, улавливаемых естественными фильтрами.

Кроме того, с помощью определения коэффициента флуктуирующей асимметрии листовых пластин осуществляется количественная оценка состояния среды. Для получения предварительных выводов необходимо определить коэффициент асимметрии для статистически значимого количества объектов: как правило, не менее 100 листьев с деревьев всех трех видов из трех контрастных по экологическому состоянию точек города. Экспериментальные исследования показывают, что наибольшие значения коэффициента асимметрии наблюдаются у листьев, взятых с деревьев, растущих вдоль автомагистралей. В результате работы подтверждается тезис, что основным источником загрязнения атмосферы в урбозкосистемах является транспорт.

Таким образом, использование относительно доступных в исполнении методов биоиндикации позволяет выявить эффект от антропогенного воздействия на природные экосистемы, в том числе и в долгосрочной перспективе. Наглядная демонстрация реального состояния даже относительно толерантных к загрязнению атмосферы видов растений показывает подлинные масштабы деструктивной антропогенной деятельности в процессе урбанизации и заставляет учащихся задумываться о последствиях данной деятельности и для самого человека.

## Основные направления преподавания дисциплин экспериментальной биологии растений в условиях перехода на двухуровневое образование в педагогических университетах

*Ершова А.Н.*

Воронеж, ФГБОУ ВО «Воронежский государственный педагогический университет», 394043, Воронеж  
ул.Ленина,86, кафедра биологии растений Тел.:(8473)253-30-00  
[aershova@vspsu.ac.ru](mailto:aershova@vspsu.ac.ru)

В связи с переходом на двухуровневое образование на биологическом отделении естественно-географического факультета Воронежского госпедуниверситета была открыта магистратура по направлению «Педагогическое образование» программа «Биологическое образование». Кафедры биологического профиля имели специализированные лаборатории по ботанике, микробиологии, физиологии растений, гербарный фонд, агробиостанцию, научно-исследовательскую лабораторию по метаболической адаптации растений, а также зоологические кабинеты, лабораториями кафедры анатомии и физиологии человека. Обучение на 67% обеспечивалось профессорами, докторами биологических наук, руководитель программы имел научный грант. При разработке учебного плана обучения магистрантов, наряду с дисциплинами психолого-педагогического цикла и методики, в него были введены и дисциплины экспериментальной биологии, такие как «Актуальные проблемы биологии и экологии растений», «Физиолого-биохимические методы исследования растений», «Физиологические основы адаптации растений к стрессам».

Особенностью учебных планов магистров было соответствующее перераспределение в контактных часах преподаваемых дисциплин в сторону увеличения самостоятельной работы студентов за счет уменьшения объемов лекционных курсов. Это вызвало необходимость перестройки преподавания дисциплин, оставляя в них только 2-3 обзорных лекции и перенос работы магистрантов на самостоятельную подготовку, включая подготовку рефератов по определенным темам с последующим представлением их в виде докладов с презентациями. На занятиях в конце каждого доклада все присутствующие могли участвовать в обсуждении представленных материалов, задавать вопросы, высказывать свои суждения, дополнения, что позволяет магистрантам лучше освоить материал. При подготовке рефератов, темы которых предлагаются преподавателем, магистранты получают консультации по поиску по подбору литературы, составления плана реферата, особенностей презентации по данной теме и т.д. Для этого на кафедрах биологического цикла выставлены графики еженедельных консультаций преподавателей, которые активно используются магистрантами. В качестве текущего контроля преподавателями используются компьютерное тестирование, проведение контрольных работ, круглых столов. При изучении дисциплин «Физиолого-биохимические методы исследования растений», «Физиологические основы адаптации растений к стрессам» студентам дается возможность освоить ряд методов и работу на современном лабораторном оборудовании. Это делается на практических занятиях при изучении содержания различных типов АФК в растениях, работу на спектрофотометре и дифференциальное центрифугирование при выделении клеточных органоидов и определения активности ферментов. Полученные навыки могут быть использованы магистрантами в дальнейшей научной работе для оценки состояния растений при действии различных факторов внешней среды, а также при организации научно-исследовательской работы в школах.

Одним из важных элементов подготовки магистрантов является проведение научно-исследовательской и научно-педагогической практик, подготовка выпускных квалификационных работ. Темы выпускных квалификационных работ очень разнообразны, но все содержат результаты собственных исследований, которые выполняются магистрантами в течение двух лет. Часть работ при этом может выполняться в лабораториях кафедры или материалы могли быть получены в полевых условиях и обрабатываться затем с использованием гербарного фонда, фонда коллекций и научной литературы. Все работы магистрантов содержат и серьезные методические главы, в которых рассмотрены различные варианты использования полученных результатов в образовательных учреждениях разного типа. Эти главы включают разработку элективных курсов, лабораторные практикумы, уроки – конференции, которые, несомненно, будут полезны им в будущей работе в школах разного типа. Часть магистрантов такие разработки успевали апробировать во время своей научно-педагогической практике в школе, получая справки о внедрении результатов своих ВКР.

После окончания магистерской программы «Биологическое образование» выпускники получают возможность работать не только в специализированных классах общеобразовательных школ, но и преподавать в лицеях, колледжа, профессиональных учебных заведениях педагогического профиля, а также поступать в аспирантуру. Это значительно расширило возможности трудоустройства выпускников педагогических вузов, что имеет немаловажное значение и при определении эффективности работы вуза.

## **Целесообразность создания сетевых программ магистратуры в области экспериментальной биологии и биотехнологии растений**

*Киселева И.С.*

Екатеринбург, Уральский федеральный университет, 620000, г. Екатеринбург, пр. Ленина, 51, тел.+7(343)2616685  
[irina.kiseleva@urfu.ru](mailto:irina.kiseleva@urfu.ru)

Стремительный рост объемов научного знания, изменение методологии научного поиска и методов исследования в области биологии и, в частности, биологии растений, многочисленные реформы науки и образования в России, запросы производственной сферы к выпускникам вузов ставят перед университетами новые задачи и вызовы. С одной стороны, необходимо сохранить фундаментальное ядро образования, с другой – обеспечить современный уровень образования. Это требует определенной гибкости, энтузиазма, творческого подхода как от разработчиков образовательных программ, так и каждого преподавателя. При этом университеты вынуждены осуществлять свою деятельность в рамках федеральных государственных образовательных стандартов высшего образования. Стандарты последнего поколения допускают большую вариативность учебного плана, что дает возможность каждому вузу создать собственные образовательные программы, учитывая специфику учебной базы, научные направления, развиваемые в университетах, наличие партнеров, профессорско-преподавательский состав и т.д. Тем не менее, часто желание «осовременить» программу не может быть реализовано в силу ограниченности или отсутствия материальных и кадровых ресурсов. В этой ситуации необходима кооперация вузов и партнеров: институтов РАН, учреждений и предприятий. Одним из возможных современных форматов такого взаимодействия являются сетевые программы.

Сетевые образовательные программы представляют собой вид программ, при освоении которых студент имеет возможность часть дисциплин или целых модулей освоить в вузе-партнере. Такие программы для биологов созданы в рамках консорциума федеральных университетов: «Физиология человека» (7 университетов-участников) и «Фундаментальная и прикладная биология» (2 вуза – УрФУ и СФУ). К сожалению, правила, регламентирующие обмен студентами разных вузов в рамках этих программ, не предусматривают дополнительных источников финансирования на мобильность студентов. Это серьезным образом ограничивает развитие сетевого взаимодействия вузов в области образования. Тем не менее, у университетов есть возможность командировать студентов на практики в другие организации.

Безусловно, наиболее целесообразным и вполне реальным является создание магистерских образовательных программ в формате сетевых. Учебные планы магистерских программ могут быть составлены таким образом, чтобы все обязательные для студентов дисциплины были сосредоточены в 1 семестре, так, чтобы во 2 студенты осваивали модули по выбору в своем вузе или вузе-партнере. В этом случае, целесообразно модули по выбору реализовывать не в течение всего семестра, а полусеместра. 3 и 4 семестры могут полностью быть освобождены под практики, что упрощает поиск средств на мобильность студентов. Студенты, обучающиеся по сетевым программам, могут часть или всю НИР выполнять в вузе-партнере под руководством преподавателей этого вуза. Таким образом, у выпускников магистратуры появляются дополнительные компетенции к тем, что они формируют в базовом вузе.

Такой подход к формированию сетевых программ позволит преодолеть барьеры, связанные с недостаточностью материальных и кадровых ресурсов вузов, позволит студентам приобрести навыки в области современной биологии. Тесная кооперация вузов может явиться также основой для продвижения вузов в рейтингах за счет увеличения мобильности студентов и /или преподавателей, роста числа статей, совместных грантов и т.д.

Особенно актуальным видится создание сетевых магистерских программ в области современной биологии и биотехнологии растений, поскольку эта область биологической науки высокотехнологична, требует современного оснащения лабораторий, применения новых молекулярных и молекулярно-генетических подходов и методов, а также интеллектуального потенциала специалистов.

## **Улучшение взаимодействия вуза и работодателей с целью трудоустройства выпускников на примере вятгу**

*Коваль Е.В.*

Киров, Вятский государственный университет; 610000, Киров, ул. Московская, 36, для кафедры экологии  
[undina2-10@yandex.ru](mailto:undina2-10@yandex.ru)

Система высшего образования, готовя квалифицированных специалистов для рынка труда, создает прирост общественного продукта, тем самым влияя на экономический рост страны. Эффективными являются вузы, чьи выпускники способны быстро адаптироваться к меняющимся условиям рынка труда, генерировать новые знания и положительно влиять на деятельность предприятия.

По данным ВЦИОМ (2016) больше половины работодателей (55%) и 36% молодых специалистов оценивают качество подготовки в российских вузах как среднее. По мнению 58% молодых специалистов уровень подготовки выпускников в отечественных вузах высокий. Эту точку зрения разделяют только 13% работодателей. В низком уровне подготовки профессиональных кадров уверены 28% работодателей и только 5% молодых специалистов. Однако абсолютное большинство опрошенных признает недостаток практических навыков у выпускников российских вузов (до 91% опрошенных).

Связь между образованием и профессией должна быть гибкой, как и взаимоотношения между вузом и работодателями. Традиционные механизмы взаимодействия вуза с работодателем складываются из реализации практик и стажировок студентов на предприятии; организации и проведении конференций, семинаров, круглых столов с привлечением работодателей; центров занятости, кадровых агентств; организации встреч представителей работодателя со студентами, экскурсии на предприятия; заключение договоров на проведение целевых наборов абитуриентов; повышение квалификации сотрудников организаций. Все эти методы зарекомендовали себя как эффективный механизм взаимодействия.

Развивая сотрудничество между вузами, профессиональными колледжами и работодателями, можно решить проблемы и соединить интересы обоих субъектов рынка труда, предприятия получают квалифицированные кадры, а образовательные учреждения – положительный имидж и высокий рейтинг, за счет востребованности выпускников. Но, к сожалению, зачастую прочного партнерства между данными субъектами не возникает.

В ВятГУ проводится активная работа по привлечению заинтересованных в квалифицированных кадрах работодателей. Востребованность молодых специалистов ВятГУ на рынке труда определяется процентом трудоустроенных выпускников, в 2015 году он составил 86%. Партнерами ВятГУ выступают более 100 предприятий различных направлений деятельности из регионов РФ (Кировская, Нижегородская, Московская область, Пермский край и др.). Для активного мониторинга рабочих мест проводится электронная ярмарка вакансий, куда работодатели отправляют свои запросы. Основными преимуществами ярмарки являются: большая целевая аудитория (более 5 тысяч студентов); свыше 740 вакансий; более 190 работодателей-участников; 17 тыс. просмотров вакансий за 2 недели; отсутствие подготовки (разработки макетов, стендов, привлечения сотрудников компании, экономия временных и финансовых ресурсов); участие в ярмарке выполняет роль PR-акции для организаций.

Нами на кафедре экологии и природопользования, проводится ряд мероприятий, направленных на усиление партнерства с СПО Кировской области. В частности, в преддверии открытия направления подготовки "Лесное дело" ведется тесное сотрудничество с КОГПОБУ "Суводский лесхоз-техникум". Выпускники техникума смогут продолжить образование в ВятГУ, уже имея базовые профильные знания по специальности. Кроме того, в подготовке специалистов данного профиля заинтересованы Министерство охраны окружающей среды и Министерство лесного хозяйства Кировской области.

Для установления постоянных партнерских отношений с работодателями ВятГУ и кафедра экологии и природопользования приглашает их на мероприятия проводимые в вузе (выставки, форумы, научные конференции), где предприниматели организуют мастер классы, рекламируют продукцию, знакомятся с проектами и научной деятельностью студентов. Например, форум «ЭкоКиров–2017», ежегодные научно-практические конференции "Экология родного края" и "Биодиагностика состояния природных и природно-техногенных систем", Всероссийская научно-практическая конференция-выставка экологических проектов «Бизнес. Наука. Экология родного края: проблемы и пути их решения».

ВятГУ обеспечивает подготовку кадров, опираясь на существующие научные школы и традиции преподавания и тесно взаимодействуя с работодателями. Наши студенты проходят производственную практику на различных предприятиях, в частности, ФГБУ "Государственный заповедник «Нургуш», Росприроднадзор, ГЖД, лаборатория биотестирования ВятГУ, лаборатория биомониторинга Института биологии Коми НЦ УрО РАН и др. Регулярные экскурсии на предприятия позволяют вживую пообщаться студентам с представителями работодателя, сформировать представление о требованиях и условиях труда.

Рассмотренные примеры свидетельствуют о том, что ВятГУ стремится построить партнерские взаимовыгодные отношения с будущими работодателями. Все начинания вузы делают добровольно и самостоятельно. Вместе с тем, необходимо на государственном уровне укрепить партнерские связи между учреждениями высшего образования и предприятиями на рынке труда.

## **База данных по экологической ботанике как электронный образовательный ресурс**

*Маракаев О.А.*

Ярославль, Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, 150003, Ярославль, ул. Советская, 14,  
(4852) 47-82-98  
[marakaev@uniyar.ac.ru](mailto:marakaev@uniyar.ac.ru)

База данных «Экология растений: электронные учебно-методические материалы» (свидетельство Роспатента о госрегистрации №2012621024) эффективно используется как современный электронный образовательный ресурс и является связующим звеном между лекциями, лабораторными занятиями, самостоятельной работой обучающихся и ее контролем. Она обеспечивает возможность изучения теоретического материала и подготовки к лабораторным занятиям по экологической ботанике, освоения необходимого терминологического аппарата, выполнения проектной работы с использованием научных источников, ее оформления и представления, самостоятельного тестового контроля. База данных включает авторские полнотекстовые издания в pdf-формате, а также активные ссылки на тематические образовательные и научные Интернет-ресурсы. Она удобна в использовании и предоставляет обучающимся возможности оперативного выбора необходимого раздела, автоматического перехода, перекрестных ссылок, «всплывающих окон», загрузки образцов отчетных документов и их редактирования.

Самостоятельная работа обучающихся обеспечивается материалами и техническими возможностями следующих разделов базы данных – электронные информационные ресурсы, учебно-методическое обеспечение, реферирование научных источников, информационные и дополнительные материалы. Их содержание позволяет преподавателю осуществлять основные и корректирующие воздействия, которые обеспечивают реализацию индивидуального подхода в обучении. Обратная связь с обучающимися возможна при анализе отчетов по самостоятельной работе, освоению методов исследования растений на лабораторных занятиях, а также текущем контроле. Электронный образовательный ресурс требует от обучающегося внимательного ознакомления с представленными материалами по экологической ботанике. Перед каждым разделом указаны цель и задачи, описывающие уровень знаний, умений и навыков, которые должны быть сформированы после его изучения. Обучающемуся необходимо прочитать их сначала, чтобы иметь представление о том, что он будет изучать, и прочитать их вновь в конце решения поставленных задач, чтобы удостовериться, что он достиг цели. При освоении теоретического материала рекомендуется изучать разделы в определенной последовательности, представленной в базе данных. Для помощи обучающемуся в изучении и оценке его прогресса, содержание всех разделов приведено в виде вопросов для самопроверки с активными ссылками на глоссарий. Это обеспечивает самоконтроль освоения пройденного материала, выявление уровня готовности к текущему контролю. Подготовка к лабораторным занятиям с использованием электронного образовательного ресурса подразумевает изучение методов исследования растений по предложенным практическим руководствам с последующей их отработкой при решении поставленных экспериментальных задач. Обучающийся использует информационные материалы базы данных для анализа самостоятельно полученных на лабораторном занятии результатов, оформления отчета и подготовки презентации. После освоения программы теоретической и практической подготовки обучающийся переходит к выполнению заданий тренировочного тестирования, где предлагаются вопросы множественного выбора. Это дополнительно способствует более тщательной подготовке к итоговому контролю по экологической ботанике.

Электронный образовательный ресурс способствует успешному решению информационных, развивающих, тренировочных и контролирующих образовательных задач по экологической ботанике. Он в полной мере соответствует требованиям современного образовательного процесса – созданию, развитию и использованию управляемых информационных образовательных ресурсов, в том числе баз и банков данных, с возможностью повсеместного доступа для работы с ними в различное время и независимо от присутствия преподавателя. База данных позволяет активно, благодаря заложенным в разработке техническим возможностям, использовать учебно-методические материалы на всех этапах обучения – от получения новых знаний, выработки умений и освоения навыков до промежуточного контроля приобретенных элементов компетенций. Это обеспечивает соблюдение принципов индивидуализации и дифференциации, а также оптимальной реализации человеческих и технических возможностей, что позволяет обучающимся достигать высоких результатов при освоении экологической ботаники.

## **Некоторые аспекты преподавания курса «Физиология растений» при подготовке бакалавров в Петрозаводском государственном университете**

*Марковская Е.Ф., Терехова Е.Н., Андросова В.И.*

Петрозаводск, ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет», 185910, Россия, Карелия, г. Петрозаводск, пр. Ленина, 33, 88142711019  
[eterebova@gmail.com](mailto:eterebova@gmail.com)

Курс «Физиологии растений» является базовым классическим курсом университетского образования. В настоящее время он включает три фрагмента: лекционный курс, практические занятия и лабораторные занятия. Включение блока «практические занятия» сделало этот курс более полноценным и творческим. Все учебники по курсу «Физиология растений», которые изданы за последние 10 лет имеются в библиотеке ПетрГУ и они все рекомендуются для подготовки. Организация всего курса в одном семестре позволила создать атмосферу «погружения». Курс лекций включает базовые темы и дает возможность сформировать основные представления по всем программным темам. Этот курс излагается с использованием презентации преподавателя с включением тематических фильмов из Интернета и фильма «Курс физиологии растений» (МГУ, автор д.б.н. Чуб), что позволяет представить различное видение тем курса и разные способы их представления. Практический курс и его появление в программе активизировало работу студентов. Каждый семинар включает тему, которая только затрагивалась в лекции. Одной из обязательных презентаций по всем темам - это история изучения с представлением ведущих ученых по данной проблеме (исторических и современных). Представление этого материала идет при участии преподавателя. Имеется список тем для работы и каждый студент вправе выбрать то, что ему интересно. Студенты готовят презентации, где, в качестве критерия качества, отмечается степень самостоятельности изложения материала. Эти доклады обсуждаются в виде ответов на вопросы студентов, комментарии преподавателя. Если доклад оказался не удачным или автор не смог ответить на вопросы, то его обсуждение переносится на следующее занятие, где уже эти проблемы решаются. Активность студентов оценивается по вопросам, авторскому видению проблемы, степени использования учебников, научной литературы и Интернета. Соотношение между этими источниками может быть самым разным. Некоторые презентации готовит группа студентов, которые совместно проводят представление материала и ответы на вопросы. Курс лабораторных работ проводится в специализированной лаборатории и включает стандартные и авторские тематические работы. Для этого курса нами разработан «Практикум по физиологии растений» (2015) и Правила техники безопасности (2016). Каждая выполненная работа оценивается преподавателем и включает умение понять задание, планирование работы, ее оформление и отчет по полученному результату. После окончания курса студенты готовятся к сдаче экзамена, который включает несколько критериев оценки: работа студента на семинарах и сдача экзамена. На экзамен готовится две группы вопросов. Первая группа включает стандартный набор вопросов по всем темам курса. Вторая группа вопросов включает прикладные и теоретические проблемы, сформулированные в виде достаточно внешне простых вопросов. Однако ответ требует специальной подготовки, а поэтому каждому студенту этот вопрос дается заранее (домашнее задание). Эта форма экзамена оказалась сложна практически для каждого студента, так как требует системных знаний. Например: «В Карелии в 60-е годы прошлого века правительством была поставлена задача выращивания в качестве сельскохозяйственной культуры кукурузы. Почему эта задача не была выполнена». Ответ требует не только знания видов растений с разным типом фиксации CO<sub>2</sub>, их структурно-метаболических особенностей, но и климатических условий региона, прогноза при глобальном потеплении, прогнозных путей современного решения этой проблемы. Однако интерес к таким вопросам очень высокий и иногда бывают достаточно интересные творческие решения. Современная структура курса является удачной и позволяет вводить новые аспекты работы, смещать акценты образования и способствовать творческому развитию студентов.

**Организация проектной деятельности на кафедре ботаники и физиологии растений  
Петрозаводского государственного университета**

*Марковская Е.Ф., Терехова Е.Н., Сонина А.В., Сергиенко Л.А., Андросова В.И.*

Петрозаводск, ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет», 185910, Россия, Карелия, г.  
Петрозаводск, пр. Ленина, 33, 88142711019  
[eterebova@gmail.com](mailto:eterebova@gmail.com)

На кафедре ботаники и физиологии растений Петрозаводского государственного университета учебно-исследовательская и научно-исследовательская работы ведутся по таким направлениям экспериментальной фитологии, как морская ботаника, лишенология, флористика и интродукция растений, фиторемедиация промышленных территорий. В качестве одного из перспективных методов нами используется метод проектов, в основе которого лежит использование творческого потенциала обучающихся в исследовательской деятельности и обучение в сотрудничестве. Внедрение экспериментальной деятельности в образовательный процесс начинается с работы со школьниками. Так традиционно, специалисты кафедры учувствуют в проведении и организации олимпиады школьников регионального и Всероссийского уровня, школьной научной конференции «Карелия будущего», проводят практические занятия для школьников и учителей Карелии по ботанике, физиологии и биохимии растений. Кафедра с 2013 г. подключилась к организации мероприятий в рамках «Международного дня растений», который каждый год посещает не менее 200 школьников разных школ города и пригорода Петрозаводска. Ребята знакомят с биоразнообразием, функциями растений и путями их использования в форме викторин, демонстрации опытов, экспериментальной работы в лаборатории. На этом этапе школьники дают оценку своим знаниям, учатся понимать, что они делают и ставить вопрос «зачем?». Далее со второго-третьего курса ведётся научно-исследовательская работа со студентами кафедры, в процессе которой они овладевают не только методиками научного эксперимента, но и учатся ставить задачи исследования и пути их реализации. Результатом этой деятельности является пополнение фондов Гербария ПетрГУ (PZV), подготовка баз данных и в итоге написание и защита выпускных квалификационных работ и магистерских диссертаций. Понимание студента о том, как нужно работать с теоретическим знанием, его анализ и место собственных исследований достигается при подготовке докладов (устных, стендовых) на студенческих научных конференциях. Традиционно на кафедре работает две секции: ботаники и физиологии растений и экологии растений. Приглашается профессиональное жюри ученых Карельского научного центра РАН. По результатам конференции победители ежегодно публикуют свои доклады в сборнике ПетрГУ (РИНЦ). Студенты кафедры активно вовлечены в проектную деятельность кафедры по темам, поддержанным грантами Программы стратегического развития высшего образования (ПСР), РФФИ, ФЦП, Госзадания Минобрнауки, ведомственными договорами. Участвуют в полевых исследованиях, камеральной обработке материалов и обсуждении результатов. Проходят учебную практику по ботанике и физиологии растений на предприятиях-партнёрах. В рамках различных договоров идут работы с участием студентов в заповедниках, Национальных парках, естественной территории Ботанического сада ПетрГУ в Карелии, где ведутся многолетние мониторинговые наблюдения. На этом этапе у студентов появляется возможность анализа и оценки своих действий в ходе осуществления научной деятельности в сотрудничестве, ответственности за работу в коллективе. Таким образом, на кафедре ботаники и физиологии растений ПетрГУ проектная деятельность, как метод обучения является основой формирования исследовательского интереса студентов при подготовке квалифицированных специалистов.



## **Разработка междисциплинарной магистерской программы «Клеточные биотехнологии» в рамках стратегических академических единиц «Экосистемы Севера» и «Paleomir» СВФУ**

*Охлопкова Ж.М.*

Якутск, СВФУ, ул. Кулаковского, 48, 8(4112)496824  
[biotechnologyysu@rambler.ru](mailto:biotechnologyysu@rambler.ru)

Быстрые темпы развития технологий и высокие достижения, в том числе и в направлении наук о жизни, требуют структурных и содержательных реорганизаций в учреждениях сферы образовательных услуг. В соответствии с постановлением Правительства Российской Федерации от 16 марта 2013 г. №211 «О мерах государственной поддержки ведущих университетов Российской Федерации в целях повышения их конкурентоспособности среди ведущих мировых научно-образовательных центров» (Распоряжение Правительства Российской Федерации от 26 августа 2013 г. № 1500-р; от 16 июня 2014 года №1053-р; от 22 мая 2015 г. № 930-р; от 19 мая 2016 г. № 960-р) двадцать один ведущих высших учебных заведений получили возможность повышения конкурентоспособности и достойного отражения в мировых рейтингах, среди которых 5 федеральных университетов. В своем составе в качестве ключевых центров развития и результативности университеты выделили стратегические академические единицы (САЕ), в которых усилена интеграция научных исследований с образовательной деятельностью.

В стратегии развития Северо-Восточного федерального университета имени М.К. Аммосова (Саха (Якутия), г. Якутск) в рамках расширения исследований северных и арктических территорий страны планируется позиционирование нескольких САЕ, в том числе с участием научных и научно-педагогических кадров института естественных наук - САЕ «Экосистемы Севера» и «PaleoMIR».

К внедрению в образовательный процесс вышеуказанного университета и позиционируемых САЕ разработана междисциплинарная магистерская программа (ММП) «Клеточные биотехнологии» с международным участием по направлению подготовки 06.04.01 Биология. Целью данной ММП является подготовка проектно-ориентированного исследователя и разработчика в области клеточной биологии и биотехнологии, с теоретическими базовыми и профильными знаниями в области направления, умеющего вести коллективную и индивидуальную проектную работу, умеющего составить план и алгоритм практических проектов на растительных объектах с акцентом на уникальных северных растениях, включая эндемичные, исчезающие и редкие виды, на животных объектах, с акцентом на представителей палеофауны и на клеточных культурах тканей человека, с акцентом на фибробласты и раковые линии.

В основе ММП заложена возможность реализации индивидуальных образовательных траекторий, усиление междисциплинарности обучения в рамках задач реализации приоритетных направлений развития с возможностью трансформации отдельных блоков в соответствии со структурой запросов работодателей на формирование конкретных профессиональных компетенций. Область профессиональной деятельности магистров программы «Клеточные биотехнологии» включает исследование биологических систем на клеточном, тканевом, органном и организменном уровнях организации и их анатомо-морфологических, физиологических закономерностей, использование биологических систем в агротехнических, лесо- и сельскохозяйственных, палеонтологических, фармацевтических и медицинских целях. Объектами профессиональной деятельности магистров являются культуры клеток растений, животных и человека, других автотрофных микроорганизмов; процессы их жизнедеятельности и эволюции; биоинженерные и биомедицинские технологии. Магистр будет подготовлен к научно-исследовательской и опытно-конструкторской работе в научно-исследовательских и научно-производственных учреждениях, к продолжению образования при поступлении в аспирантуру российского или зарубежного ВУЗа. Участниками реализации программы отмечены стратегические партнеры университета - кафедра физиологии растений МГУ им. М.В. Ломоносова (г. Москва), отдел клеточной биологии и биотехнологии ИФР РАН (г. Москва), музей Мамонта (г. Якутск), международный центр коллективного пользования «Молекулярная палеонтология» (г. Якутск), лаборатории Технопарка Якутии (г. Якутск), научно-исследовательская лаборатория клеточных технологий и регенеративной медицины Медицинской клиники (г. Якутск), Высшие школы естественных наук, медицины и восточной медицины Пусанского национального университета (Корея, г. Пусан).

Учебный процесс построен на основе модулей (базовых, профильных курсов) с участием ведущих российских и зарубежных ученых и профессоров в качестве спикеров программы, приглашены к сотрудничеству и руководители научно-производственных компаний. Отдельные курсы будут выездными (учебно-методические и научные стажировки) в научно-исследовательские лаборатории и центры стратегических партнеров. Рассматривается в перспективе и сетевое взаимодействие ВУЗов. Обучение в прикладной междисциплинарной магистратуре «Клеточные биотехнологии» завершается с защитой магистрантом практического инновационного проекта в виде выпускной квалификационной работы.

## Практико-ориентированное изучение физиологии растений в аграрном вузе

*Панфилова О.Ф., Пильщикова Н.В.*

Российский государственный аграрный университет-МСХА имени К.А. Тимирязева. Тимирязевская улица, 49,  
Москва, Россия  
[Panfilova.of@yandex.ru](mailto:Panfilova.of@yandex.ru)

Особенностью реализации новых поколений ФГОС ВО является компетентный подход и усиление практической направленности образования. Это должно обеспечивать успешную самореализацию выпускников в обществе, готовность к непрерывному пополнению знаний и повышению квалификации. Первостепенную роль в достижении поставленных целей играют активные и интерактивные формы и методы обучения, основанные на собственном опыте обучающихся, их прямом взаимодействии с областью осваиваемого профессионального опыта. Одной из ключевых задач Петровской академии еще при ее создании было распространение и внедрения знаний, необходимых для развития и усовершенствования сельского хозяйства. В 2007 году с этой целью в рамках инновационного образовательного проекта организован Центр точного земледелия (ЦТЗ). Проведение научно-методической и производственной практики студентов на базе ЦТЗ позволяет будущим агрономам освоить полевые методы физиологических и агрохимических исследований, использовать методы комплексной оценки состояния посева, принимать решения по управлению продукционным процессом сельскохозяйственных культур с целью повышения урожайности и сохранению окружающей среды.

При подготовке магистров широко используется проектная работа. Тематика разрабатываемых проектов – использование достижений современной физиологии растений в практической работе. В зависимости от направления подготовки магистров и изучаемой на кафедре дисциплины студенты разрабатывают проблемы частной физиологии растений, стресс-физиологии, светокультуры растений, физиологических основ прецизионного растениеводства, применения регуляторов роста, сохранения декоративных качеств цветов в срезке. Студент может сам предложить тему, если она связана с вопросами физиологии растений, которые впоследствии потребуются ему для выполнения квалификационной работы на выпускающей кафедре.

Практикум по физиологии растений открывает широкие возможности для сотрудничества студентов при выполнении лабораторных работ, коллективной мыслительной деятельности при обсуждении результатов учебной исследовательской работы, анализе влияния факторов среды на интенсивность и направленность процессов жизнедеятельности. Семинары по разделам курса проводятся в форме дискуссий, а порой и мозгового штурма, где предполагаются генерация разнообразных идей, их совместный отбор и критическая оценка. Активное, заинтересованное, эмоциональное обсуждение ведет к осмысленному усвоению новых знаний и позволяет преподавателю оценивать приобретенные навыки и умения студента. Хотя для рубежной аттестации мы также используем тестирование. Наряду с традиционными тестами подготовлены кейс-задания, представляющие собой набор разных типов задач и тестов, сформулированных к одной практико-ориентированной ситуации.

Перспективным мы считаем применение технологии обучения ТОГИС, которая предполагает такое построение образовательного процесса, при котором студенту не предлагается набор готовой информации, а требуется осознанный поиск, отбор, анализ и использование материала с применением компьютерных технологий. При участии студентов разработан модуль «Фотосинтез» электронного учебника, который включает учебный материал с гиперссылками на глоссарий, банк слайдов, литературу для углубленного изучения, вопросы и тесты для самоконтроля знаний. Создан электронный тренажер по листовой диагностике минерального питания и нарушениях физиологических процессов при голодании растений и действии тяжелых металлов на растения.

Необходимость глубоких современных знаний физиологии и биохимии растений не освобождает, а предполагает проверку того, как эти знания могут быть использованы в практической деятельности, то есть владение знаниями, способность понимать, критически анализировать и излагать базовую информацию в области природопользования, способность решать задачи профессиональной деятельности на основе информационной и библиографической культуры с применением информационно-коммуникативных технологий с учетом основных требований информационной безопасности. Это должно найти отражение в разрабатываемых фондах оценочных средств. Контролирующие материалы, предназначенные для измерения уровня достижения обучающимися установленных результатов, уже не могут ограничиваться вопросами и тестами для проверки конкретных знаний изучаемой дисциплины. Тестирование позволяет оценивать результаты работы студента с достаточной долей объективности, благодаря четким критериям оценивания. Но для проверки сформированности компетенций необходимо использовать открытые тестовые задания, требующие не только содержательные, но и операционные компоненты мышления, решение задач, кейс-технологий, творческие задания. Мы считаем целесообразным в общую рейтинговую оценку освоения дисциплины включать выполнение студентами творческих заданий разных уровней сложности, выполнение учебной исследовательской работы, выступление на конференциях.

## **Опыт использования проектно-ориентированного обучения в реализации магистерской программы «Физиология растений»**

*Синицына Ю.В., Стручкова И.В., Веселов А.П.*

ННГУ им. Н.И. Лобачевского, 603950, пр. Гагарина, 23, г. Нижний Новгород, Россия  
[jsin@inbox.ru](mailto:jsin@inbox.ru)

Масштабная программа модернизации образования в современной России предполагает широкое внедрение методов обучения, направленных на развитие познавательных навыков обучающихся, на умение самостоятельно конструировать свои знания, грамотно выстраивать практическую деятельность по их получению. Одной из педагогических технологий, предусматривающих применение актуализированных знаний при непосредственном включении обучающихся в процесс образовательной деятельности от разработки идеи до ее осуществления, является метод проектов. В настоящей работе приводится опыт применения метода проектов при обучении студентов по магистерской программе "Физиология растений" в рамках дисциплины "Магнитобиология" в Нижегородском университете.

Метод проектов удобно использовать в тех случаях, когда в учебном процессе возникает какая-либо исследовательская задача, решение которой требует интеграции знаний из различных областей, а также применения исследовательских методик. Высокая эффективность получения и усвоения знаний студентом при выполнении проекта реально достижима при наличии в изучаемой области проблем, нерешенных вопросов, желательны – на стыке нескольких наук, науки и технологии, науки и искусства и т.д. Одной из областей экспериментальной биологии растений, подходящей для метода проектов, является раздел магнитобиологических исследований растительного организма. Такие исследования подразумевают работу на стыке физиологии и биохимии растений, физики, математики и пр. Мультидисциплинарный подход позволяет смоделировать аналог реальных проблемных ситуаций, встречающихся в профессиональной деятельности исследователя-биолога, сформировать навыки, необходимые для их решения. В частности, при обучении методом проектов студенты-биологи осознают необходимость овладения основами делопроизводства - обязательной составляющей деятельности современного исследователя при его взаимодействии с заказчиками, работодателями, коллегами.

Наш практический опыт позволил выявить следующие проблемы в реализации метода проектов, с которыми неизбежно сталкиваются студенты, преподаватели и вспомогательный персонал:

- 1) значительное возрастание материальных затрат по сравнению с традиционными методами обучения: требуются более разнообразные реактивы и расходные материалы, оборудование, биологические объекты;
- 2) увеличение затрат времени преподавателя по сравнению с традиционными методами преподавания (дополнительные консультации, необходимость оперативного решения организационных, технических и непрофильных теоретических проблем); несоразмерность реальных трудовых затрат преподавателя официально учитываемой трудовой нагрузке;
- 3) возрастание требований к подготовке преподавателя в научной составляющей (умение и желание работать универсалом, с погружением в многочисленные смежные проблемы науки и общества), в педагогической составляющей, а также к его навыкам как административного работника (организатора, документоведа);
- 4) сложность согласования использования студентами специализированных аудиторий, постоянно задействованных в расписании учебных занятий, с лицами, отвечающими за использование аудиторного фонда;
- 5) необходимость привлечения вспомогательного персонала для контроля соблюдения техники безопасности и правильности работы студентов на дорогостоящем оборудовании;
- 6) первично негативное отношение к правилам оформления документов как у студентов, так и у преподавателей;
- 7) субъективность оценки, связанная со сложностью разработки её четких критериев.

Несмотря на указанные выше сложности, предложенная форма проектной деятельности получила положительный отклик у студентов. Они отметили возросшую мотивацию к получению новых знаний и умений, осознание цели их получения. Повысилась самостоятельность и ответственность, закрепились навыки групповой деятельности и самоконтроля. Выполнение проекта неизбежно ставило студентов перед необходимостью повторить основы физиологии растений, выявить и устранить пробелы в знаниях, применить их в нестандартной ситуации, в реальной исследовательской деятельности.

Необходимо особо подчеркнуть, что широкое внедрение в учебный процесс безусловно ценного, полезного и инновационного метода проектов возможно только при активной моральной и материальной поддержке со стороны руководства ВУЗа.

## **Особенности преподавания курса физиологии растений в аграрном вузе на примере РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева**

*Тараканов И.Г., Яковлева О.С.*

ФБОУ ВПО Российский Государственный Аграрный Университет-МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, тел: 8-499-976-20-54  
[plantphys@rgau-msha.ru](mailto:plantphys@rgau-msha.ru)

Климент Аркадьевич Тимирязев назвал физиологию растений теоретической основой рационального земледелия. Традиционно, кафедра физиологии растений является одной из основных кафедр агрономического факультета.

Курс физиологии растений для бакалавров на очном отделении РГАУ-МСХА преподается на пяти факультетах: агрономии и биотехнологии, садоводства и ландшафтного дизайна, почвоведении, агрохимии и экологии, зоотехнии и биологии, а также технологическом. Для бакалавров двух первых факультетов это базовая дисциплина, для большинства профилей других факультетов это дисциплина вариативной части. На каждом факультете несколько направлений подготовки бакалавров. По каждому направлению сформированы отдельные потоки.

На факультете агрономии и биотехнологии сформировано 3 потока академического и 1 поток прикладного бакалавриата. Общее количество аудиторных часов колеблется от 72 до 118 часов. При этом соотношение лекционных и лабораторно-практических занятий колеблется от 1/1,5 до 1/3. На лабораторном практикуме широко используется как база кафедры физиологии растений, так и лаборатория искусственного климата. Для студентов, обучающихся по направлению «Агрономия» на кафедре организован предмет по выбору «Биохимические основы формирования качества урожая». Для направления биотехнологии также преподаются две дисциплины по выбору «Физиология клетки» и «Физиология микроорганизмов». Для большинства студентов факультета агрономии и биотехнологии организована летняя учебная практика. Базой учебной практики является Полевая опытная станция. Особенно объёмная учебная практика у студентов прикладного бакалавриата.

На факультете садоводства - 2 потока академического и 1 поток прикладного бакалавриата. Количество аудиторных часов колеблется 80 до 102. При этом соотношение лекционных и лабораторно-практических занятий находится в диапазоне от 1/1,5 до 1/2. На кафедре для отделения прикладного бакалавриата читается дисциплина «Основы физиологии садовых культур в культивационных сооружениях».

Для других факультетов количество аудиторных часов по физиологии растений колеблется от 42 до 72, а соотношение лекционных и лабораторно-практических занятий колеблется от 1/1 до 1/2. Но даже для этих факультетов преподаются дисциплины по выбору по выбору. Так, для лесоводов читается курс «Физиология минерального питания древесных растений».

Кафедра физиологии растений имеет свою магистерскую программу «Фитотехнологии и биопродукционные системы». В данном случае она является выпускающей кафедрой. Основным базовым предметом в этой программе является экологическая физиология растений. Для студентов этой программы проводятся такие дисциплины, как «Частная физиология полевых культур», «Системный подход в биологии», «Физиолого-биохимические основы вторичного метаболизма», «Системы интенсивного культивирования растений» и другие.

Преподаватели кафедры преподают свои дисциплины и в других магистерских программах. Это и «Физиология культурных растений» для генетиков, и «Стресс-физиология» для земледельцев и защитников растений.

Достаточно большой объём работы приходится на проведение научно-исследовательской и преддипломной практики, а также подготовку выпускных квалификационных работ бакалавров и магистров. Ежегодно кафедра выпускает от 7 до 15 бакалавров и магистров.

## Проектная деятельность как средство развития творческого потенциала студента при изучении физиологии растений

*Хрянин В.Н., Савина Л.Н.*

Пензенский государственный университет, Красная, 40, Пенза 440026, 8 (412) 36-82-09  
[viktor.khryanin@gmail.com](mailto:viktor.khryanin@gmail.com)

Все виды занятий по физиологии и биохимии растений должны строиться таким образом, чтобы больше отводить времени на проведение самостоятельных научных исследований, которые повышают заинтересованность студентов в конечных результатах поставленных экспериментов. В связи с повышением требований к творческому потенциалу личности выпускника ВУЗа должны изменяться характер и условия организации учебной деятельности студентов. Для выполнения требований ФГОС ВПО важно определить проблему выбора технологий и методов обучения, дающих возможность формировать у студентов общие и профессиональные компетенции. При организации самостоятельной работы важно обратить внимание студентов на сочетание фундаментальных знаний и их практической ориентации на успешную реализацию в производственной деятельности, готовности к непрерывному повышению квалификации, внедрению новых информационно-коммуникационных технологий. В настоящее время в практике обучения студентов широко используется **метод проектов**, который предполагает опору на творчество обучающихся, приобщение их к исследовательской деятельности, организацию обучения в сотрудничестве. Суть этого метода – стимулировать интерес студентов к определенным проблемам, решение которых предполагает владение определенной суммой знаний и через проектную деятельность применение их для решения реальной практической задачи. Этот метод позволяет реально соединить теоретические знания с практическим опытом их применения. Основное предназначение метода проектов состоит в предоставлении студентам возможности самостоятельного приобретения знаний и умений и их интеграции из различных предметных областей в ходе решения поставленной проблемы. Для студента проект – это возможность максимального раскрытия своего творческого потенциала и средства самореализации. Проектная деятельность позволяет проявить себя индивидуально или в группе, попробовать свои силы, приложить свои знания, принести пользу, показать публично достигнутый результат. Проект может быть осуществлен в рамках как одной дисциплины, так и нескольких в зависимости от выбранной тематики и области решаемых задач. В результате интегрированных проектов у студентов складывается единое мировоззрение, формируются профессиональные и личностные компетенции различных направлений. Важным достоинством проектной деятельности студентов выступает их творческая направленность, использование исследовательских методов, проблемный характер обучения, приобретение студентами практического опыта, ведение процесса проектирования. Осуществление проектной деятельности предполагает непосредственное создание студентами готового продукта, который может быть представлен изделием, письменной работой, докладом, презентацией и т.д. Вся работа обычно заканчивается публичной защитой проекта, после чего производится анализ полученных результатов, отмечаются достоинства и недостатки. Системное внедрение метода проектов в процессе обучения оказывает значительное влияние на формирование профессиональных и личностных компетенций. Метод проектов позволяет активизировать полученные знания, способствует поиску и конструированию новых идей, стимулирует творческое мышление, способствует развитию навыков самостоятельности в принятии решения. Использование проектных технологий обеспечивает новое качество профессиональной подготовки. При составлении проектов и активизации исследовательской работы студентов необходимо использовать различные модели. В частности, для планирования и обработки полученных данных эксперимента по физиологии и биохимии растений можно использовать простейшие и сложные математические модели. Это повышает эффективность самостоятельной работы студентов, стимулирует их интерес к научной работе. Проекты можно реализовать во время учебно-производственной практики, выполнения курсовых и бакалаврских работ, магистерских диссертаций. Студент индивидуально, начиная с первого дня закладки опытов, должен вести наблюдения, измерения, фотографирования, запись, и обработку результатов, сделать выводы. Применение инновационных образовательных технологий в преподавании физиологии и биохимии растений позволит студентам получить высококачественное образование. Научиться находить и анализировать информацию, обоснованно подбирать методы исследования (метод – это эмбриология истины, А.И. Герцен), с достаточной повторностью выполнять экспериментальную часть работы, проводить статистическую обработку полученных результатов. Тематика научных и квалификационных проектов бакалавров, магистров и аспирантов находится в русле тех проблем, которые разрабатываются и решаются на кафедре: “Эволюция и регуляция пола у растений”; “Взаимодействие растений с другими организмами”; “Физиологические основы применения регуляторов роста в растениеводстве”; “Фотосинтез, минеральное питание и продукционный процесс”; “Анатомо-морфологическая и физиологическая характеристика редких и исчезающих видов Среднего Поволжья”.

## **Наиболее распространенные ошибки в планировании опытов и интерпретации полученных данных**

***Чиков В.И.***

ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН, Казань  
[vichikov@bk.ru](mailto:vichikov@bk.ru)

В сообщении будет показано, как в соответствие с логикой научного поиска планировать, проводить и анализировать результаты опыта. В числе наиболее важных моментов в проведении и анализа экспериментов отмечаются:

- отсутствие логики научного поиска при планировании опыта;
- кинетические особенности анализируемых процессов;
- масштабность влияния отдельных участников на процесс в целом;
- несопоставимость измеряемой величины с интенсивностью действующих потоков веществ;
- регуляторные возможности участвующих ферментов в изменении исследуемого потока метаболитов;
- последствия нарушения потоков веществ под влиянием исследуемого фактора;
- недоучет (или непонимание) механизмов эволюционных изменений в живых системах.

По каждому из перечисленных аспектов будут представлены соответствующие иллюстрации или пути перепроверки получаемого результата.

**Авторский указатель**

**—B—**

Balcke G.U., 219  
Bilova T.E., 219  
Birkemeyer C., 219  
Boyarkina S.V., 357  
Brauch D., 219

**—C—**

Chasov A.V., 257

**—D—**

Didio A.V., 219

**—F—**

Frolov A.A., 219  
Frolova N.V., 219

**—G—**

Greifenhagen U., 219  
Grishina T.V., 219

**—K—**

Kershanskaya O., 190  
Kirillova I.G., 191

**—L—**

Lukasheva E.M., 219

**—M—**

Malakhova K.V., 226, 227  
Maramokhin E.V., 226, 227  
Milkowski C., 219  
Minibayeva F.V., 257

**—O—**

Omelichkina Yu.V., 357  
Onele A.O., 257  
Osmolovskaya N.G., 219

**—P—**

Paudel G., 219

**—S—**

Schilyaev N.G., 219  
Shafikova T.N., 357  
Soboleva A.V., 219  
Stephens J., 190

**—V—**

Viktorova L.V., 257

**—W—**

Wessjohann L.A., 219

**—Z—**

Zontikov D.N., 226, 227  
Zontikova S.A., 227

**—A—**

Абдулалишоева С.Ф., 110

Абубакирова Р.И., 360  
Абугалиева А.И., 78, 229, 290  
Авальбаев А.М., 79, 80  
Авдеева Г.С., 362  
Аверчева О.В., 81  
Агеева М.В., 177, 197  
Азарин К.В., 82  
Азаркович М.И., 83  
Азарова Т.С., 23  
Аканов Э.Н., 70  
Акимова Е.С., 21, 127, 149  
Акинчиц Е.К., 128  
Аксиненко М.А., 84, 252  
Албантова А.А., 107  
Алексеева В.В., 85  
Алексеева О.М., 86, 87  
Алексеева С.И., 88  
Алексеева-Попова Н.В., 292  
Аллагулова Ч.Р., 79, 80, 89, 90  
Алмуграби Е., 327  
Амброс Е.В., 91  
Андреева А.А., 92  
Андронов Е.Е., 19  
Андросова В.И., 93, 325, 375, 376  
Аникина Л.М., 57  
Анисимов А.А., 94, 129, 130  
Анисова Ж.М., 118  
Анищенко О.В., 330  
Анохина Г.Б., 297  
Антал Т.К., 95  
Антонова Г.Ф., 318  
Арисова А.К., 351  
Артемьева А.М., 57  
Асадова С.Ш., 96  
Асбаганов С.В., 41  
Афонин А.М., 26, 342  
Ахатова А.Р., 368  
Ахиярова Г.Р., 17  
Ахтемова Г.А., 20, 26, 342

**—Б—**

Бадичеан Д.В., 97  
Бажина Е.В., 306  
Базарнова Н.Г., 329  
Баймиев Ал.Х., 21, 28, 125, 127, 343, 344  
Баймиев Ан.Х., 21  
Балаур Н.С., 97, 98  
Балнокин Ю.В., 29  
Балясный И.В., 302, 303, 304, 305  
Бараева Н.А., 163  
Баранова Г.Б., 22, 111  
Баранова Е.Н., 22, 70, 111, 147  
Бассарская Е.М., 81  
Баташева С.Н., 20, 99  
Батова Ю.В., 46  
Безрукова М.В., 89  
Беленко Д.П., 287  
Беленков А.И., 264  
Белимов А.А., 23  
Белкина А.В., 100, 123  
Белова И.В., 101

- Белова М.М., 102  
 Бельков В.И., 202  
 Беляева А.И., 292  
 Бендер О.Г., 103  
 Бердичевец И.Н., 182  
 Бердникова О.С., 166  
 Берегова М.С., 366  
 Бережнева З.А., 50, 104  
 Березина Е.В., 317  
 Берестовой М.А., 105  
 Бергова А.Д., 40  
 Бессолицына Е.К., 106  
 Бинюков В.И., 107  
 Блохин В.И., 20  
 Блуфард А.С., 108  
 Бободжанова Х.И., 109, 110  
 Богданова Е.С., 52, 56, 245, 284  
 Богоутдинова Л.Р., 70, 111  
 Бойко Е.В., 112, 141, 142, 167, 168  
 Болдырева Л.Л., 217  
 Болондинский В.К., 114, 275, 294  
 Борисов А.Ю., 26  
 Борисова Г.Г., 223, 224  
 Боровик О.А., 24  
 Боровский Г.Б., 24, 202  
 Бородин Д.Б., 115, 116  
 Боталова К.И., 117, 351  
 Бояркина С.В., 358  
 Браилко В.А., 37  
 Брановицкая Т.Ю., 255  
 Брилкина А.А., 317  
 Бубякина В.В., 126, 272, 323  
 Будкевич Т.А., 118  
 Булавин И.В., 136, 150  
 Булышева М.М., 119  
 Бурмистрова Н.А., 120  
 Бурундукова О.Л., 25  
 Бурханова Г.Ф., 309  
 Бурьгин Г.Л., 38, 187, 331  
 Бурьянов Я.И., 85, 174, 288  
 Бухарина И.Л., 121  
 Буцанец П.А., 122, 139  
 Быбин В.А., 53  
 Быковская И.А., 258  
 Быстрова Е.И., 170
- В—
- Валдайских В.В., 29  
 Валитова Ю.Н., 100, 123, 281  
 Варгач Ю.И., 124  
 Васильев И.А., 224  
 Васильева Е.Н., 26  
 Васильева И.В., 126, 272, 323  
 Вацерионова Е.О., 47  
 Ведерникова К.В., 240  
 Велегжанинов И.О., 137  
 Величко В.В., 66, 330  
 Вепринцев В.Н., 42  
 Вержук В.Г., 27  
 Вершинина З.Р., 28, 125, 343, 344  
 Веселов А.П., 300, 379  
 Веселов С.Ю., 207  
 Веселова С.В., 289
- Ветчинникова Л.В., 126  
 Видершпан А.Н., 112, 141, 142, 167, 168  
 Видхолм Дж.М., 189  
 Виноградова С.В., 163  
 Вишнякова М.А., 23  
 Владимирова А.А., 21  
 Владимирова А.С., 127, 149  
 Власова И.И., 47  
 Власова Н.С., 278  
 Воденев В.А., 128, 146  
 Водолазский В.С., 129, 130  
 Вознесенская Е.В., 131, 204, 205  
 Войцеховская О.В., 68, 335  
 Волкова Л.А., 345  
 Волобуева О.Г., 132  
 Волошина Т.В., 133, 134  
 Воробьев Н.В., 302, 303, 304, 305  
 Воронин П.Ю., 29  
 Воронина В.С., 42  
 Воронков А.С., 135, 173, 246  
 Воронкова Т.В., 200  
 Воронцов В.А., 97, 98  
 Высоцкая Л.Б., 207, 338
- Г—
- Гавриленко Т.А., 276  
 Гагарина И.Н., 262  
 Гаевский Н.А., 261  
 Газель Е.В., 136  
 Гайсин И.А., 267  
 Гайфуллина И.З., 30  
 Галибина Н.А., 31, 225, 238, 247, 250  
 Гамбург К.З., 24  
 Гарибов З.А., 96  
 Гаркуша С.В., 302, 303, 304, 305  
 Гармаш Е.В., 137  
 Гатауллина М.О., 138  
 Генерозова И.П., 107, 139  
 Гизбрехт С.В., 233, 234  
 Гильманова Р.И., 79, 80  
 Гоголев Ю.В., 11, 34, 36, 58, 265  
 Гоголева Н.Е., 11, 34, 36  
 Голденкова-Павлова И.В., 105, 182, 260, 291  
 Голованова Т.И., 140, 179  
 Головацкая И.Ф., 112, 141, 142, 167  
 Головки Т.К., 32, 137, 175  
 Гончарук Е.А., 143  
 Горбачев Д.П., 320  
 Гордеева И.В., 370  
 Горелова С.В., 144  
 Горина С.С., 33, 106, 307  
 Горчакова Ю.А., 143  
 Горшков А.П., 71  
 Горшков В.Ю., 11, 34, 36, 58, 265  
 Горшков О.В., 35, 177, 242  
 Горшкова Т.А., 30, 35, 177, 197, 215, 242, 296, 334  
 Грабельных О.И., 24  
 Граскова И.А., 53, 269  
 Гребенникова А.Ю., 145  
 Гребенникова О.А., 263  
 Гречкин А.Н., 33, 307  
 Грибовская И.В., 261  
 Громова Е.Н., 146



Грунина Е.Н., 101  
 Губаев Р.Ф., 11, 34, 36, 265  
 Губанова Т.Б., 37  
 Гулевич А.А., 22, 147  
 Гуляева Е.Н., 148  
 Гуменко Р.С., 21, 127, 149  
 Гурьянов О.П., 349  
 Гусева Е.Д., 157  
 Гусейнова С.Р., 150

## —Д—

Давидович Н.А., 151, 152  
 Давидович О.И., 152  
 Давыдова А.В., 240  
 Давыдова А.Н., 129, 153  
 Далькэ И.В., 32  
 Даминова А.Г., 11, 34, 36, 58, 265  
 Даминова А.И., 266, 267  
 Данилина Н.Н., 200  
 Данилова М.Н., 154, 155, 159  
 Данцюк Н.В., 73  
 Дейнеко Е.В., 12, 63  
 Демидчик В.В., 335  
 Демина О.С., 156  
 Демченко К.Н., 157, 194  
 Денисов А.М., 55  
 Дехеш К., 61  
 Дикая В.С., 314  
 Доброногова А.С., 158  
 Добрякова К.С., 335  
 Долгов С.В., 70  
 Домашевская А.Г., 233  
 Дорджиева В.О., 133  
 Дорошенко А.С., 154, 155, 159  
 Дробецкая И.В., 73  
 Дроздова И.В., 292  
 Дубина Е.В., 203  
 Дубровина А.С., 65, 254  
 Дударева Л.В., 270  
 Дуплий Н.Г., 160  
 Дымова О.В., 32, 175  
 Дьяченко О.В., 174

## —Е—

Евдокимова Д.П., 161  
 Евкайкина А.И., 68  
 Евсеева Н.В., 38, 162, 187, 331  
 Егоренкова И.В., 162  
 Егорова Е.Д., 163  
 Егорова Н.А., 39, 171, 365  
 Егорова У.В., 259  
 Емельянов В.В., 40, 355  
 Епринцев А.Т., 138, 293, 297, 337  
 Ермошин А.А., 164  
 Ершова А.Н., 165, 166, 371  
 Ефимова М.В., 167, 168

## —Ж—

Жданова И.В., 235  
 Жернаков А.И., 342  
 Живетьев М.А., 53  
 Жигалова Т.В., 81  
 Жигачева И.В., 107, 169

Жижина М.Н., 256  
 Жуков А.В., 361  
 Жуков В.А., 26, 342, 362  
 Жуковская Н.В., 170, 196

## —З—

Забродин Д.А., 92  
 Завалин А.А., 23  
 Заварзина А.Г., 248  
 Загитов Д.И., 99  
 Загорская А.А., 63  
 Загорская М.С., 171  
 Загоскина Н.В., 143, 246, 248  
 Задиранова Н.С., 282  
 Зайцева Ю.В., 172, 274  
 Зайцева Ю.Г., 41  
 Зайченко О.С., 282  
 Захарова Е.В., 173  
 Захарченко Н.С., 174  
 Захожий И.Г., 32, 175, 284, 322  
 Землянухина О.А., 42, 176  
 Зернова О.В., 189  
 Зобова Н.В., 326  
 Зубей Е.С., 43  
 Зуев Ю.Ф., 99

## —И—

Ибрагимова Н.Н., 177  
 Иваницкая А.С., 17  
 Иванов В.Б., 170  
 Иванов И.И., 207  
 Иванов Л.А., 178, 180, 185, 285  
 Иванов Ю.В., 59  
 Иванова А.Н., 68, 179, 335  
 Иванова Е.П., 241  
 Иванова И.Д., 234  
 Иванова Л.А., 178, 180, 185, 232, 285  
 Иванова М.В., 44  
 Иванова Н.Н., 235  
 Иванова С.С., 259  
 Иваченко Л.Е., 208  
 Игнатенко А.А., 181  
 Иголкина А.А., 19  
 Икконен Е.Н., 45, 74  
 Ильина Е.Л., 157  
 Ильина И.А., 244  
 Исламова Н.А., 121

## —К—

Кабардаева К.В., 105, 182  
 Казахмедов Р.Э., 183  
 Казнина Н.М., 46  
 Калаев В.Н., 42, 176  
 Калацкая Ж.Н., 184  
 Калашникова И.В., 185  
 Калимова И.Б., 292  
 Калинин Д.С., 214  
 Каманина Л.А., 209  
 Камнев А.А., 67  
 Канаш Е.В., 57, 186  
 Карабутова Л.А., 337  
 Караваева А.В., 193  
 Каргаполова К.Ю., 187

- Каримова Ф.Г., 79, 80  
 Карпеченко И.Ю., 42  
 Карпеченко Н.А., 42  
 Карташов А.В., 59  
 Карягин В.В., 280  
 Касаткин М.Ю., 188  
 Касимова Р.И., 368  
 Катичева Л.А., 128, 146  
 Кершанская О.И., 189  
 Ким Ю.А., 87  
 Кириллова Л.Л., 241  
 Кирпичникова А.А., 192, 355  
 Кирюшкин А.С., 157  
 Киселев К.В., 65, 254  
 Киселева Г.К., 193, 244  
 Киселева И.С., 164, 299, 372  
 Китаева А.Б., 71, 194, 212, 342  
 Климов В.В., 61, 76, 367  
 Клюкова М.С., 342, 362  
 Князев А.В., 50  
 Ковалев В.С., 302, 303, 304, 305  
 Ковалева Л.В., 135, 173  
 Ковалевич А.А., 82  
 Коваль Е.В., 373  
 Кожухметов К., 78, 229, 290  
 Кожевникова А.Д., 195, 196  
 Козак Н.В., 237  
 Козлова Л.В., 197  
 Коломейчук Л.В., 167, 168  
 Комарова Н.Р., 198  
 Кондратьев М.Н., 153, 156, 161, 199  
 Кондратьева В.В., 200  
 Кононов А.В., 51  
 Копанина А.В., 47  
 Корнацкий С.А., 201  
 Корнюхин Д.Л., 57  
 Коробова А.Б., 17  
 Коробова А.В., 207  
 Коротаева Н.Е., 202  
 Корчёмкина А.В., 320  
 Косарева И.А., 23  
 Кособрюхов А.А., 48, 144, 284, 340  
 Костылев П.И., 82, 203  
 Котева Н.К., 119, 131, 204, 205  
 Кочетов А.А., 301  
 Кочетова Г.В., 81  
 Кочкин Д.В., 332, 345  
 Кравцова А.В., 186  
 Красавина М.С., 120  
 Краснова Е.В., 203  
 Красов А.И., 162  
 Крашенинников В.Н., 348  
 Кременцова А.В., 87  
 Креславский В.Д., 49, 144  
 Кривандин А.В., 87  
 Кривошеева А.Б., 59  
 Крицкая Т.А., 38  
 Крыжко А.В., 206  
 Крюков Л.А., 220, 222  
 Кудоярова Г.Р., 207, 338  
 Кудоярова Р.А., 17  
 Кудрякова Н.В., 92, 155  
 Кудряшов С.В., 233, 234  
 Кузнецов В.В., 92, 155  
 Кузнецов Вл.В., 13, 29, 59  
 Кузнецова В.А., 208, 209  
 Кузнецова Л.Н., 206  
 Кузьмин П.А., 210  
 Кулаева О.А., 342  
 Кулакова В.О., 234  
 Куликов И.М., 237  
 Кулуев Б.Р., 50, 104, 309  
 Кумар А., 223  
 Кумахова Т.Х., 211  
 Куренина Л.В., 147  
 Курносова Т.Л., 258  
 Кусакин П.Г., 194, 212  
 Кухарчик Н.В., 110  
 Кучарова Е.В., 213  
 Кучер Е.Н., 217, 341  
 Кушунина М.А., 230, 231  
 —Л—  
 Лавина А.М., 28, 125, 343, 344  
 Лаврова В.В., 214  
 Лазарева Е.М., 22, 111  
 Лайдинен Г.Ф., 46  
 Ламан Н.А., 184  
 Ланцев В.Л., 278  
 Лапшин П.В., 248  
 Ларикова Ю.С., 153, 156, 161, 199  
 Ларская И.А., 215, 334  
 Ларченков В.М., 198  
 Ласточкин В.В., 40  
 Лебедев В.Г., 216  
 Лесникова-Седошенко Н.П., 235  
 Литвинский В.А., 23  
 Литягина С.В., 253  
 Лиходеевский Г.А., 260  
 Лозовая В.В., 189  
 Лоскутов И.Г., 124  
 Лось Д.А., 105  
 Лубянова А.Р., 89  
 Луговская А.А., 217  
 Лукаткин А.А., 218  
 Лукаткин А.С., 218  
 Лукьянова М.В., 220  
 Лунькова Н.Ф., 120  
 Лыгин А.В., 189  
 Лысенко Е.А., 14  
 Любимов В.Ю., 49  
 Любушкина И.В., 24  
 Люшкевич В.А., 184  
 —М—  
 Магомедова М.А., 183  
 Маевская С.Н., 29, 221  
 Макаренко М.С., 82  
 Макарова А.Е., 220, 222  
 Макарова Г.А., 301  
 Макарова Н.М., 23  
 Макеева И.Ю., 278  
 Максимов А.П., 29, 51  
 Максимов И.В., 289, 309  
 Максимов Т.Х., 29, 51  
 Малева М.Г., 223, 224, 299

- Малофий М.К., 167, 168  
 Малышев Р.В., 52, 175  
 Мамаев А.В., 225  
 Мамченкова П.В., 67  
 Маракаев О.А., 172, 274, 374  
 Маркова Ю.А., 53  
 Марковская Е.Ф., 48, 148, 228, 325, 375, 376  
 Масимгазиева А.С., 78, 229  
 Масленникова Д.Р., 89, 90  
 Маслова С.П., 322  
 Массон К.В., 234  
 Матвеева Е.М., 214  
 Матора Л.Ю., 38, 162, 331  
 Медведева Ю.В., 69, 339  
 Мейчик Н.Р., 230, 231  
 Мелехин А.К., 236  
 Меренюк Л.Ф., 97, 98  
 Мертвищева М.Е., 124  
 Мигалина С.В., 185, 232  
 Микшина П.В., 30, 296  
 Миль Е.М., 107  
 Минибаева Ф.В., 100, 123, 281, 349  
 Минич А.С., 233, 234  
 Минич И.Б., 233, 234  
 Минюк Г.С., 15, 73  
 Миргородская О.Е., 119  
 Миронов К.С., 105  
 Мироньчева А.А., 11  
 Мирская Г.В., 301  
 Митрофанова И.В., 235  
 Митрофанова О.В., 235  
 Михайлова Е.А., 54, 236  
 Михайлова Е.В., 55, 104  
 Михайлова М.П., 208, 209  
 Мокшина Н.Е., 35, 177, 242  
 Морозов С.Ю., 64  
 Морозов Е.А., 330  
 Морозова К.В., 148  
 Мотылева С.М., 237  
 Мощенская Ю.Л., 31, 238, 247, 250  
 Мудрилов М.А., 128, 146  
 Мурдова Л.Д., 287  
 Мурасева Д.С., 239  
 Мурашев С.В., 27  
 Мурган О.К., 167, 168  
 Мустафаев О., 182, 291  
 Мухтарова Л.Ш., 33, 307  
 Мягких Е.Ф., 240  
 Мясоедов Н.А., 29
- Н—
- Назаренко Л.В., 143  
 Назарова Г.Н., 241  
 Назарова Я.И., 360  
 Назипова А.Р., 197, 242  
 Нгуен Т.Н.Н., 293  
 Неверов К.В., 243  
 Невмержицкая Ю.Ю., 327  
 Нелидова Д.С., 189  
 Ненько Н.И., 193, 244  
 Нестеркина И.С., 56, 245  
 Нестеров В.Н., 56, 245, 284  
 Нечаева Т.Л., 246
- Никерова К.М., 31, 225, 238, 247, 250  
 Никифоров А.Р., 235  
 Николаева М.К., 29, 221  
 Николаева Н.Н., 250  
 Николаева Т.Н., 248  
 Николаева Ю.И., 230, 231  
 Нилова И.А., 249  
 Новикова Т.И., 41, 91, 239  
 Новицкая Л.Л., 31, 238, 247, 250  
 Новичонок Е.В., 228, 275  
 Ножкина О.А., 251  
 Носиков В.В., 23  
 Носкова М.А., 84, 252  
 Носкова Н.Е., 84, 252  
 Носов А.М., 332, 345  
 Нохсоров В.В., 270  
 Нуждина Н.С., 239  
 Нурминский В.Н., 56
- О—
- Обручева Н.В., 253  
 Огнева З.В., 65, 254  
 Озолина Н.В., 56, 245  
 Олейникова В.С., 255  
 Олехнович Л.С., 200  
 Омеличкина Ю.В., 358  
 Омельченко А.В., 256  
 Осипов Ю.А., 186  
 Осипова Л.В., 258  
 Осколков В.А., 318  
 Охлопкова Ж.М., 213, 259, 298, 377
- П—
- Павленко О.С., 105, 260  
 Павлов А.В., 27  
 Павлова А.М., 261, 330  
 Павловская Н.Е., 262  
 Пак М.Э., 17  
 Палий А.Е., 263  
 Палий И.Н., 263  
 Панкратенко А.В., 64  
 Панова Г.Г., 57  
 Панфилова О.Ф., 264, 378  
 Парфилова О.И., 265  
 Пахомова В.М., 266, 267  
 Перк А.А., 126, 270, 272, 323  
 Перфильева А.И., 268, 269  
 Петров К.А., 270  
 Петров Р.Е., 51  
 Петрова Н.В., 79  
 Петрова Н.Е., 126  
 Петрова О.Е., 11, 33, 34, 36, 58, 106, 265, 307  
 Пешкова А.М., 241  
 Пиголева С.В., 174  
 Пикуленко М.М., 211  
 Пильщикова Н.В., 378  
 Плюснин И.Н., 112, 167, 168  
 Подгорная М.Н., 238  
 Подунай Ю.А., 152  
 Пожидаева Е.С., 155  
 Поливанова О.Б., 271  
 Половинкина Е.О., 220, 222  
 Полякова С.Л., 152

Пономарев А.Г., 126, 272, 323  
 Попкова Л.Л., 273  
 Попова А.А., 274  
 Постригань Б.Н., 50  
 Придача В.Б., 275, 294  
 Проворов Н.А., 19  
 Прудникова О.Н., 280  
 Пузанский Р.К., 276, 277  
 Пузина Т.И., 278  
 Пулькина С.В., 339  
 Пухальская Н.В., 279  
 Пухальский Я.В., 23  
 Пучко Е.Н., 288  
 Пчёлкин В.П., 361  
 Пшеницына Т.С., 302, 303, 304, 305

## —Р—

Рабданова К.К., 335  
 Ракитин В.Ю., 280  
 Ракитина Т.Я., 280  
 Ралдугина Г.Н., 59, 147  
 Рахманкулова З.Ф., 29, 363  
 Ренкова А.Г., 100, 123, 281  
 Репкина Н.С., 181  
 Решетник Г.В., 150, 282, 283  
 Рихванов Е.Г., 24  
 Робонен Е.В., 350  
 Рогожин Е.А., 60  
 Рогозин Р.А., 17  
 Розенцвет О.А., 52, 56, 245, 284  
 Роллетшек Х., 61  
 Романюк Д.А., 355  
 Ронжина Д.А., 178, 180, 285  
 Роньжина Е.С., 286, 287  
 Рукавцова Е.Б., 85, 288  
 Румянцев С.Д., 289  
 Румянцева А.Д., 308  
 Русаков Д.В., 186  
 Рыбалова А.С., 325  
 Рыжих Т.М., 353  
 Рымарь В.П., 29

## —С—

Савин Т.В., 290  
 Савина Л.Н., 381  
 Савченко Т.В., 61  
 Савчин Д.В., 24  
 Садовская Н.С., 182, 260, 291  
 Садыкова В.С., 17, 60  
 Сазанова К.В., 292  
 Сазонова О.В., 293  
 Сазонова Т.А., 275, 294  
 Сак М.М., 118  
 Салмин С.А., 295  
 Сальников В.В., 11  
 Сарварова Е.Р., 62  
 Саргалиева Г.М., 21, 127, 149  
 Сауткина О.В., 296  
 Сафронова В.И., 23  
 Сафронова Н.М., 279  
 Селиванова Н.В., 138, 297  
 Селиверстова Е.В., 72  
 Семенов А.А., 53

Семенов К.Н., 57  
 Семенова А.К., 259  
 Семенова Д.З., 259  
 Семенова Е.В., 23  
 Семенова М.В., 200  
 Сербаяева Э.Р., 28, 125, 344  
 Сергеева Ю.П., 58  
 Сергиенко Л.А., 376  
 Серебрякова О.С., 126  
 Серегин И.В., 16, 195, 196  
 Середа А.М., 117  
 Середнева Я.В., 300  
 Сивцева С.В., 298  
 Сидоров А.В., 172, 274  
 Сидоров Р.А., 105, 260  
 Сидорчук Ю.В., 63  
 Сидякин А.И., 136, 150  
 Силантьева М.М., 145  
 Силина Е.В., 32, 137  
 Силкин М.Ю., 152  
 Симон Е.В., 112  
 Синенко О.С., 299  
 Сিনিцына Ю.В., 300, 379  
 Синькевич И.А., 253  
 Синявина Н.Г., 301  
 Скаженник М.А., 302, 303, 304, 305  
 Скрипальщикова Л.Н., 306  
 Сливка Е.В., 224  
 Смеря С.В., 98  
 Смирнова Е.А., 111  
 Смирнова Е.О., 33, 106, 307  
 Собчук Н.А., 354  
 Соловченко А.Е., 81  
 Соловьев А.Г., 64  
 Соловьева А.И., 314  
 Сониная А.В., 308, 376  
 Сорокань А.В., 289, 309  
 Сорокина Т.В., 198  
 Сосина А.В., 310  
 Софронова В.Е., 95, 311  
 Софронова И.Н., 238  
 Спиридонова Е.В., 245  
 Ставцева И.В., 39  
 Стадничук И.Н., 333  
 Стасова В.В., 306, 318  
 Степанов А.В., 24  
 Степанов С.А., 312, 313  
 Степанова А.Ю., 314  
 Степанова В.В., 223, 224  
 Стеценко Л.А., 315  
 Стриж И.Г., 316  
 Стручкова И.В., 317, 379  
 Ступко В.Ю., 326  
 Суворова Г.Г., 44, 318  
 Сулима А.С., 342  
 Сундырева М.А., 244, 319  
 Супрун А.Р., 65, 254  
 Сурова Л.М., 320  
 Суслов М.А., 321  
 Сухов Б.Г., 269  
 Сухов В.С., 146, 320  
 Схалыхо Т.В., 244  
 Схат Х., 196

Сысоева А.В., 329  
 Сысолятин Д.С., 283  
 Сэтре Т.Й.Л., 293

## —Т—

Табаленкова Г.Н., 32, 52, 175, 284, 322  
 Таланова В.В., 181, 346  
 Тальских А.И., 47  
 Тараканов И.Г., 94, 366, 380  
 Тарасенко В.И., 202  
 Тарасова Н.Б., 11  
 Тарелкина Т.В., 250  
 Тарлачков С.В., 85  
 Татаринова Т.Д., 126, 272, 323  
 Теплицкая Л.М., 324, 341  
 Теплякова С.Б., 192  
 Терехова Е.Н., 325, 375, 376  
 Терентьев В.В., 61, 76, 367  
 Терентьева Е.В., 331  
 Терентьева М.П., 51  
 Терлецкая Н.В., 326  
 Тимофеева Г.В., 173  
 Тимофеева О.А., 327  
 Титов А.Ф., 46, 74, 181, 359  
 Тихова Г.П., 275  
 Тиходеев О.Н., 342  
 Тихомиров А.А., 66, 261, 330  
 Тихомирова Л.И., 328, 329  
 Тихомирова Н.А., 66, 261, 330  
 Тихонов К.Г., 61  
 Тихонович И.А., 23, 26, 342  
 Ткаченко О.В., 38, 187, 331  
 Толстыко Е.А., 64  
 Томилова С.В., 332  
 Топоркова Я.Ю., 33, 106, 307  
 Топчиева Л.В., 249  
 Трегубова К.В., 162  
 Третьякова И.Н., 17  
 Трипти, 223  
 Трифионов С.В., 330  
 Тропин И.В., 333  
 Трофимова Е.Г., 91  
 Трофимова О.И., 215, 334  
 Тугарова А.В., 67  
 Тюрин А.А., 105, 182  
 Тютерева Е.В., 68, 335

## —У—

Удалова О.Р., 57  
 Ульяновская Е.В., 193  
 Унжаков А.Р., 350  
 Урбанович О.Ю., 24  
 Урманцева В.В., 345  
 Усатов А.В., 82  
 Ушакова С.А., 66, 261, 330  
 Ушакова Я.В., 319

## —Ф—

Фадеев В.С., 182, 260  
 Файзуллин Д.А., 99  
 Фатыхова В.С., 33, 106  
 Федина Е.О., 79, 108, 336  
 Федорин Д.Н., 337

Федорова К.А., 79, 80  
 Федосеева И.В., 24  
 Федяева А.В., 24  
 Феоктистова А.В., 338  
 Феранчук С.И., 53  
 Филатова И.И., 184  
 Филонова М.В., 69, 339  
 Филь А.А., 140  
 Фомина И.Р., 340  
 Фролова Т.В., 184  
 Фурс О.В., 174  
 Фурсова А.И., 341

## —Х—

Хабибрахманова В.Р., 123  
 Хайруллин Р.М., 62  
 Хайруллина М.М., 342, 362  
 Хакимова Л.Р., 28, 125, 343, 344  
 Халилуев М.Р., 70, 111  
 Ханды М.Т., 88, 345  
 Хачумов В.А., 82  
 Хейнзел Н., 61  
 Хечиева В.А., 134  
 Хлопков А., 128  
 Холодова В.П., 59  
 Холупцева Е.С., 346  
 Холупенко И.П., 25  
 Хомяков Ю.В., 57  
 Хоробрых А.А., 61, 367  
 Хохлов Н.Ф., 94  
 Хоцкова Л.В., 347  
 Хрянин В.Н., 348, 381  
 Худякова А.Ю., 49

## —Ц—

Цунская А.А., 308  
 Цыганов В.Е., 71, 72, 194, 212  
 Цыганова А.В., 71, 72  
 Цыдендамбаев В.Д., 361

## —Ч—

Чарыков Н.А., 57  
 Часов А.В., 349  
 Чеботова Л.В., 166  
 Челебиева Э.С., 73  
 Чепалов В.А., 270  
 Чердниченко М.Ю., 102, 158, 271, 310  
 Чернобровкина Н.П., 350  
 Четина О.А., 117, 351  
 Четкин И.Р., 108, 336  
 Чивкунова О.Б., 81  
 Чиков В.И., 20, 99, 352, 382  
 Чирва О.В., 93  
 Чиркова Т.В., 40  
 Чмелёва С.И., 353, 354  
 Чубчикова И.Н., 73  
 Чудинов В.А., 78  
 Чукина Н.В., 223, 224  
 Чуринов А.А., 69, 339  
 Чурсина Н.Л., 233, 234  
 Чэнь Т., 192, 355

## —Ш—

Шаварда А.Л., 276, 277, 292  
Шакирова Ф.М., 79, 80, 89, 90  
Шапошников А.И., 23  
Шарапова Л.С., 356  
Шаркаева Э.Ш., 218  
Шафикова Т.Н., 358  
Шашков А.С., 30  
Шевчук Т.В., 174  
Шелякин М.А., 32, 175  
Шерстнева О.Н., 128, 320  
Шерудило Е.Г., 45, 74, 359  
Шестакова В.В., 193  
Шестибратов К.А., 216  
Шеховцова Н.В., 172  
Шиббаева Т.Г., 74, 225, 359  
Шибряева Л.С., 87  
Шилова И.В., 69  
Широких А.А., 360  
Широких И.Г., 75, 360  
Широкова А.В., 361  
Ширшикова Г.Н., 49  
Шитов А.В., 76  
Шихов В.Н., 330  
Шишова М.Ф., 192, 276, 277, 355, 362  
Шмакова Н.Ю., 228  
Шмарев А.Н., 49  
Штарк О.Ю., 277, 342, 362  
Шубаков А.А., 54, 236

Шугаев А.Г., 122, 139  
Шугаева Н.А., 122  
Шуйская Е.В., 29, 363  
Шуклина А.С., 364  
Шумкова Г.А., 59

## —Щ—

Щеголев С.Ю., 38, 331  
Щуклина О.А., 130

## —Э—

Эдвардс Дж., 205  
Эдвардс Дж.Э., 131, 204  
Энзекрей Е.С., 130

## —Ю—

Юдина П.К., 178  
Юлдашев Р.А., 79, 80, 90  
Юрина Н.П., 356  
Юрков А.П., 277, 362  
Юрьева Н.О., 147

## —Я—

Якимова О.В., 365  
Яковлева О.С., 366, 380  
Яныкин Д.В., 61, 367  
Ярин А.Ю., 108, 336  
Яруллина Л.Г., 368  
Яруллина Л.М., 368



**Компания СпецЛабПроект** специализируется на поставках лабораторного оборудования для изучения растений.

**Компания СпецЛабПроект** эксклюзивно представляет в России и странах СНГ продукцию немецкой компании **Heinz Walz**.

**Компания Heinz Walz** - признанный мировой лидер в производстве приборов для изучения фотосинтетической активности и газообмена растений.



**Система измерения газообмена растений GFS-3000FL**

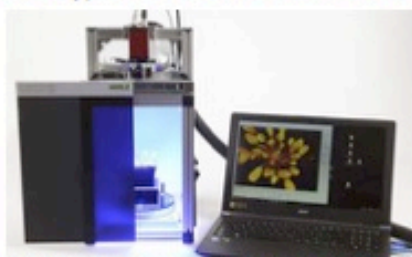


**NEW! Флуориметр PHYTO-PAM II**

**Компания Heinz Walz** предлагает широкий выбор приборов для изучения растений. Прежде всего это **импульсные флуориметры**, предназначенные для изучения фотосинтетической активности растений методом измерения уровня флуоресценции хлорофилла.

Также в ассортименте компании **Walz** имеются высокопроизводительные **системы измерения газообмена растений** серии **GFS-3000**, которые могут быть объединены с различными импульсными флуориметрами в единые универсальные программно-аппаратные комплексы для одновременного получения данных по газообмену и флуоресценции хлорофилла.

**Компания Heinz Walz** предлагает также приборы для определения точки росы, измерители уровня освещенности, датчики к ним и многое другое.



**NEW! Флуориметр 3D IMAGING-PAM**



**NEW! Флуориметр MINI-PAM II**

Приборы **Walz** применяются в биологии, ботанике, физиологии растений, селекции, агрономии, растениеводстве, биотехнологиях, экомониторинге и других областях. **Компания Walz** производит как оборудование для исследований в условиях лаборатории, так и портативные мобильные приборы для работы в полевых условиях.

Создание приборов **Walz** проходит в тесном сотрудничестве с ведущими учеными, занимающимися изучением фотосинтеза и смежных научных дисциплин, что даёт компании **Walz** возможность оставаться мировым лидером в производстве наукоемкого оборудования, соответствующего последнему слову науки и техники.

**ООО «СПЕЦЛАБПРОЕКТ»**

Россия, 117997, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10, к. 2, эт. 4, пом. I, к. 33.

Тел.: +7(499)391-7042 [walz@spezlab.ru](mailto:walz@spezlab.ru)

[www.spezlab.ru](http://www.spezlab.ru) [www.heinzwalz.ru](http://www.heinzwalz.ru) [www.walz.com](http://www.walz.com)

# LI-COR

ЛАБ  
Инструментс

Подразделение **LI-COR Environmental** компании **LI-COR** (США) ([www.licor.com](http://www.licor.com)) является ведущим производителем приборов для изучения растений, включая системы изучения процессов фотосинтеза (измерение флуоресценции хлорофилла, измерение газообмена растений), приборов для измерения площади листьев и покрытия кроны, датчиков уровня освещенности и регистраторов к ним, а также газоанализаторов, систем экологического мониторинга и много другого.

### **Новая система анализа процессов фотосинтеза LI-COR LI-6800**

Беспрецедентные возможности для измерения параметров газообмена растений и флуоресценции хлорофилла. Новое поколение самой цитируемой системы в мире.

### **Система анализа процессов фотосинтеза LI-COR LI-6400**

Проверенное временем качество и надежность, широкий спектр возможностей, широкий ассортимент рабочих камер.

### **Анализатор проективного покрытия кроны LI-COR LAI-2200C**

Быстрый и точный неразрушающий анализ листового индекса трав, кустарников и древесных насаждений.

### **Регистраторы освещенности LI-COR LI-250A и LI-COR LI-1500**

**LI-COR LI-250A** – одноканальный регистратор для записи сигнала

**LI-COR LI-1500** – трехканальный регистратор для записи и анализа сигналов

Интуитивный интерфейс, надежность, ударопрочность, водонепроницаемость.

### **Датчики уровня освещенности, температуры, влажности и др.**

Наземные и подводные датчики ФАР, радиометры, фотометрические датчики, пиранометрические датчики, датчики температуры воздуха / почвы, датчики влажности воздуха / почвы, и многие другие.

### **Анализаторы площади листовой поверхности и других параметров листа**

**LI-COR LI-3000C** - портативный анализатор площади листа

**LI-COR LI-3100C** – лабораторный анализатор площади листа

Анализ площади, длины, максимальной ширины и усредненной ширины листа.

**Компания ЛабИнструментс - официальный эксклюзивный представитель  
компании LI-COR в РФ и странах СНГ**

Россия, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.16/10 (ИБХ РАН), оф. 32-306

Тел./факс: +7 (499) 72-488-72, +7 (495) 223-2815, +7 (495) 669-2094

Ответственный представитель поставщика:

к.х.н. Анцыпович Сергей Игоревич

[sa@labinstruments.ru](mailto:sa@labinstruments.ru) [www.labinstruments.ru](http://www.labinstruments.ru)





## Самый высокотехнологичный биореактор для фотосинтезирующих микроорганизмов Labfors 5 Lux LED Flat Panel

ΔΙΑ•M



**Labfors 5 Lux LED Flat Panel** применяется для работы с микроводорослями, клетками растений, цианобактериями, создание микробиоценозов, получения биотоплива.

- Толщина сосуда всего 2 см для максимальной проницаемости света.
- Общий объем – 1,9 л, рабочий объем – 1,6–1,8 л.
- Технология **AirLift** для деликатного перемешивания.
- 260 светодиодов с водяным охлаждением.
- Интенсивность света – 3000 мкмоль/м<sup>2</sup>·хсек.
- датчик освещенности измеряет свет на выходе из биореактора с «темной стороны», для контроля биореактора в режиме **Luminostat**, который ограничивает чрезмерное воздействие света на клетки и побочные эффекты световой энергии.
- Возможность выбора спектра светодиодов при заказе.
- Программирование кривых освещенности через ПО.
- Асимметричная конструкция сосуда препятствует пенообразованию.
- Разделитель позволяет создать направление потока.
- Распылительная головка для подачи газа, который создаёт поток в сосуде.

ЛАБОРАТОРНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ ■ ПЛАСТИК ■ СТЕКЛО ■ РЕАКТИВЫ ■ НАБОРЫ

[www.dia-m.ru](http://www.dia-m.ru)  
заказ онлайн