Годичное собрание ОФР 2022
Всероссийская научная конференция
с международным участием

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ И ФЕНОМИКА

КАК ОСНОВА СОВРЕМЕННЫХ ФИТОБИОТЕХНОЛОГИЙ

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ

Нижний Новгород
27 - 30 сентября
2022

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Российская академия наук
Общество физиологов растений России
Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН
Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского

Всероссийская научная конференция
с международным участием

«Физиология растений и феномика
как основа современных фитобиотехнологий»

Годичное собрание
Общества физиологов растений России

Тезисы докладов
(Нижний Новгород, 27-30 сентября 2022 г.)

Нижний Новгород
2022

УДК 581.1(063.2)
ББК 22.573я431
В85

«Физиология растений и феномика как основа современных фитобиотехнологий», Всерос. научн. конф. с междунар. участием. Всероссийская научная конференция с международным участием «Физиология растений и феномика как основа современных фитобиотехнологий». Годичное собрание Общества физиологов растений России. Нижний Новгород, 27-30 сентября 2022 г.: Тезисы докл. / ННГУ им. Н.И. Лобачевского. - Нижний Новгород: Изд-во ННГУ, 2022. - 223 с. - Текст: электронный.

ISBN 978-5-91326-767-2

Проведение школы-конференции поддержано Министерством науки и высшего образования Российской Федерации (Соглашение № 075-15-2020-927 от 13.11.2020 г. о создании и развитии научного центра мирового уровня «Центр фотоники»).

ISBN 978-5-91326-767-2

© Нижегородский госуниверситет
им. Н.И. Лобачевского, 2022

СОДЕРЖАНИЕ

Механизмы устойчивости и продуктивности растений 4
Взаимодейсвие растений с другими организмами 141
Биотехнология растений и микроорганизмов 162
Феномика растений 197

Механизмы устойчивости и продуктивности растений

Gene expression analysis of potato (*Solanum tuberosum* L.) lipoxygenase cascade and oxylipin signature under abiotic stress

Gorina S.S., Ogorodnikova A.V., Mukhtarova L.S., Toporkova Y.Y.

Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Lobachevsky str., 2/31, Kazan, Russia.
gsvetlana87@gmail.com

The metabolism of polyunsaturated fatty acids through the lipoxygenase-catalyzed step and subsequent reactions is referred to as the lipoxygenase (LOX) pathway. The components of this system, such as jasmonates, are involved in growth, development and defense reactions of plants. One of the central positions in the conversion of fatty acid hydroperoxides to the corresponding oxylipins (jasmonates, divinyl ethers, volatile aldehydes, hydroperoxy-, hydroxy, oxo- and epoxy derivatives of fatty acids, etc.) is occupied by cytochromes P450 of the CYP74 family: allene oxide synthases (AOSs), hydroperoxide lyases (HPLs), divinyl ether synthases (DESs), and epoxyalcohol synthases (EASs). In this report, we focus on dynamics of expression of different LOX pathway genes and activities of target enzymes with three abiotic stress factors: darkness, salinity and herbicide toxicity. To obtain a more complete picture, the expression profiles of marker genes for salicylic acid, abscisic acid, ethylene, auxin and gibberellin-dependent signaling systems under the same stresses were also analyzed. Our results demonstrate that different types of abiotic stress are characterized by their own pattern of expression of genes of the LOX cascade, as well as by different activities of target enzymes (LOX, CYP74, etc.). We detected activation of a number of 9-LOX pathway genes; however, in contrast to studies associated with biotic stress (infection), the 9-divinyl ether synthase branch of the LOX cascade was inhibited under all three stresses. GC-MS analysis of the oxylipin profiles also showed the main activity of the 9-LOX-cascade-related enzymes after treatment with herbicide and darkness. In contrast to biotic stress, we found products of the 9-AOS and 9-EAS pathways derived from 9-linoleic acid hydroperoxide (9-HPOD). Thus, different types of stress factors can lead to the same intermediate products (in this case, 9-HPOD), which are then utilized by different CYP74 enzymes.

The authors are thankful for the financial support from the government assignment for FRC Kazan Scientific Center of RAS (bioinformatics analyses and potato cultivation). Works on the study of the activity of CYP74 enzymes were supported by grant 20-04-01069 from the Russian Foundation for Basic Research (RFBR). Experiments on the study lipoxygenase cascade were supported by the Russian Science Foundation (Project No. № 21-14-00397).

Evolutionary trends in leaf structure and tolerance to desiccation in ancestral and modern forms of wheat

Kiseleva I.S.

Ural Federal University, 51 Lenin Ave., Yekaterinburg, Russia.
irina.kiseleva@urfu.ru

Spontaneous hybridization of 14-chromosomal wheat species with 14-chromosomal *Aegilops* species in evolution and subsequent selection led to the emergence of a fairly large variety of alloploid species, including 28, 42 or more chromosomes and different subgenomes: *Aegilops* L. 2n=14 (genomes Bsp, BL, D), *Triticum* L. 2n=14 (genomes A, Ab), 2n=28 (AuB, AbG), 2n=42 (AuBD, AbGD) and 2n=56 (AbAbGG). 4 species of the genus *Aegilops* L. and 22 species of the genus *Triticum* L., differing in origin, genomic composition and ploidy, were studied in relation to the size and structure of the flag leaf to understand the conjugation of photosynthesis functions and resistance to desiccation. In the series from forms with 2 n = 14 to 2 n = 42, an increase in the area of the flag leaf, the volume of mesophyll cells and their number in the leaf was noted. However, the number of cells and chloroplasts per unit leaf area decreased, which was accompanied by a decline in the total internal assimilation area (Ames/A), which led to a deterioration in the conditions for the CO_2 and water vapor diffusion in leaf tissues. Under desiccation, the forms with 14-chromosomes and A genome and with 28-chromosoms and AbG genome showed the greatest tolerance; tetraploids with 28 chromosomes and the AuB genome were less resistant. In the series from 14-chromosome to 28-chromosome species, the number of stomata decreased, which also caused a lower rate of water loss in evolutionarily younger forms.

Thus, in the course of spontaneous hybridization of diploid monogenomic wheat species with *Aegilops*, forms with a less developed internal assimilation surface (Ames/A) appeared, which, along with a decrease in the number of stomata per unit leaf area, on the one hand, led to a deterioration in the conditions for CO_2 diffusion, on the other hand, it limited the diffusion of water vapor from the leaf and transpiration losses. The increase in the productivity in alloploid occurred due to an increase in the area of an individual leaf and the assimilation surface as a whole, as well as greater resistance to water deficiency.

Influence of temperature conditions on the dynamics of physiological processes in grapes

Lutskiy E.O., Sundyreva M.A.

North Caucasian Federal Scientific Center for Horticulture, Viticulture and Winemaking,
Krasnodar, Russian Federation.
maxitostyle@gmail.com

Grapes are one of the most significant agricultural crops. Low temperature stress is one of the main factors leading to crop loss worldwide. Therefore, it is important to study the dynamics of physiological processes in plants exposed to this abiotic stress, followed by the development of methods for alleviating its consequences. The purpose of this study is to identify the dynamics of changes in physiological and biochemical parameters in grapes depending on temperature conditions during the dormant period. The objects of the study were three grape varieties contrasting in frost resistance: unstable TANA 33, frost-resistant TANA 42 and TANA 68. For research, grape cuttings were selected from a field plot in the period from October 2020 to March 2021, which was characterized by significant temperature fluctuations. The expression of a number of genes for carbohydrate and lipid metabolism, the content of malondialdehyde, the activity of antioxidant enzymes, and the content of carbohydrates were studied. No correlation was found between malondialdehyde (MDA) content and temperature fluctuations. In varieties TANA 42 and TANA 68, an increase in activity and an increase in the number of peroxidase isoforms (POD) was observed against the background of a decrease in temperature. The unstable variety TANA 33 was characterized by a sharp increase in the content of soluble carbohydrates and a decrease in the content of starch with decreasing temperature (correlation coefficients -0.88 and 0.77, respectively), while changes in the content of carbohydrates for varieties TANA 42 and TANA 68 were not associated with temperature fluctuations. In all grape hybrids in November and December (organic dormancy), a higher level of expression of lipoxygenase (LOX) and desaturase (Des) genes was observed, followed by a decrease in January and February and an increase in March at the beginning of sap flow. Temperature did not affect the dynamics of desaturase and lipoxygenase expression during the dormant period of grapes in non-frost-resistant TANA33 and TANA68 forms. The most stable TANA 42 was characterized by an increase in LOX expression with increasing temperature. The expression of sucrose synthase (SS4) and sucrose phosphate synthase (SPS) genes changed little during the dormant period and was not associated with temperature changes. The expression of the trehalose-6-phosphatase (TPPB) gene tended to increase during the emergence of grape plants from the dormant period in March, a more intense increase in TPPB expression was observed in frost-resistant varieties. The level of relative expression of trehalase (TRE) was high from the period of organic dormancy and decreased by March.
Changes in the content of various fractions of carbohydrates during temperature fluctuations in the winter period characterized a non-frost-resistant grape variety. The level of relative expression of genes involved in the metabolism of sucrose and trehalose, changes in the composition of bilipid membranes (Des, LOX), was slightly affected by temperature changes, but changed significantly at different stages of the dormant period. These genes may regulate dormancy stages in grapes and provide different levels of cold tolerance.

Effect of foliar application with various caffeic acid formulations on the growth and proline content of winter wheat seedlings in saline medium

***Nedved H.L.*[*], *Kalatskaja J. N.*[*], *Herasimovich K. M.*[*], *Rybinskaya E. I.*[*], *Hileuskaya K. S.*[**], *Nikalaichuk V.V.*[**], *Laman N.A.*[*]**

[*] V.F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus, Akademicheskaya str., 27, Minsk, Republic of Belarus;
[**] Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Sciences of Belarus, F. Skaryna str., 36 Minsk, Republic of Belarus.
nedved_e@tut.by

Winter wheat (*Triticum aestivum* L.) – is one of the most important cereal crop species widely cultivated. Salt accumulation in the soil is becoming serious problem and leads to modifications of the physical-chemical properties of the soil, reduced the normal growth and productivity of agricultural crops. One of the recent strategies to improve stress tolerance of crops is the application of naturally occurring molecules, which triggering stress responses linked to plant defense machinery. Among these compounds, caffeic acid (CA) and its derivatives deserve particular attention. An important phenylpropanoid is CA (3, 4-dihydroxycinnamicacid), present in plants. CA is a primary precursor for the formation of lignin in plants. It is associated with the turgor pressure, water flux, growth, regulation of cell expansions and phototropism. CA play an important role in plants against biotic and abiotic stresses including UV light, drought, low and high temperature stress, salinity stress and heavy metals stress etc.

In this study, we investigated the effect of exogenous application of various formulations of CA (CA, chitosan-CA conjugates, ionic liquid of CA) on plant growth and proline content. Seedlings were grown hydroponically with a light/dark cycle of 14/10 h, under normal growth conditions for 5 days and they were divided into six group: 1 – control, no NaCl addition; 2 – salt stress 200 mM NaCl; 3 – NaCl + foliar spray with 10 µM CA 3 mL; 4 – NaCl + foliar spray with Chit-CA 5:1 3 mL; 5 – NaCl + foliar spray with Chit-CA 1:3 3 mL; 6 – NaCl + foliar spray with 10 µM ionic liquid CA 3 mL. The seedlings were harvested after 5 days after treatments. To synthesize the conjugates, we used chitosan with Mv ~ 30 kDa. Conjugates of chitosan with CA were prepared with the carbodiimide method with preliminary activation of the carboxyl groups of the EDC (1-ethyl 3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride). Ionic liquid of CA was synthesized by neutralizing choline bicarbonate with acid. Ionic liquid (choline caffeate) are completely soluble in water.

Salt stress had significant injurious effects on plant growth, a decrease of 35% was observed for the shoot length, root length and fresh shoot weight, whereas the fresh root weight and dry shoot weight decreased by 19% and 26%, respectively. The exogenous application various formulations of CA reduced the deleterious effects of NaCl and increased the growth parameters, compared to the stressed seedlings. The strongest effect was noted in stressed seedling treated with Chit-CA 5:1 and ionic liquid CA. In particular, Chit-CA 5:1 treatment increased the shoot length by 13% and fresh shoot weight by 17%, whereas an increase of 11% and 16% in these parameters was observed after ionic liquid CA treatment. The dry shoot weight incremented of an average of 22% in both variants.

Proline accumulation in the roots and shoots of wheat seedlings grown under NaCl stress, in the absence and in the presence of foliar treatment was also evaluated. When seedlings were grown under 200 mM NaCl, a significant increase in the level of proline occurred in the roots and shoots more than 6-fold and 15-fold higher, respectively, than the control. As already noted for growth parameters, the treatment of stressed seedlings with CA formulations affected the content of proline, namely, decreased its content in roots relative to stress control. Foliar treatment of stressed seedlings with 10 µM CA decreased proline content by 36%, ionic liquid – by 23%, conjugates Chitosan-CA – on average by 13% in roots. Conversely, no significant effects were observed after treatment of CA fotmulations on proline content in shoots.

Thus, the data obtained indicate that foliar spray with CA formulations leads to an increase in shoot growth parameters and decrease proline content in roots in stressed seedlings. This indicates that treatment contributed to a decrease in the degree of damage to winter wheat seedlings by sodium chloride. The most effective action was shown by conjugates Chitosan-CA 5:1 and ionic liquid CA.

This work was supported by the State Committee on Science and Technology of the Republic of Belarus under grant №Б21УЗБГ-019

Biostimulant activity of chitosan-hydroxycinnamic acid conjugates on the growth and development of microclone potato plants *in vitro*

***Yalouskaya N.*[*], Kalatskaja J.*[*], Laman N.*[*], Hileuskaya K.*[**], Kulikouskaya V.*[**], Nikalaichuk V.*[**]

[*] Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus, 27, Akademicheskaya str., Minsk, Republic of Belarus;
[**] Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Sciences of Belarus, 36, F. Skorina str., Minsk, Republic of Belarus.
yalouskaya92@mail.ru, kalatskayaj@mail.ru

Plant growth regulators extracted from natural raw materials are widely used in agriculture. Such compounds not only stimulate the growth and development of many crops, but also increase resistance to adverse environmental factors. These compounds include chitosan and representatives of hydroxycinnamic acids (caffeic acid and its derivative – ferulic acid), capable of activating development in low concentration and inducing resistance by promotion the antioxidant system and accumulation of defense metabolites. Chitosan is a cationic polysaccharide that presents many promising properties such as excellent biocompatibility and biodegradability, abundance and low cost, also well-known antibacterial, antifungal and growth-promotion activities. The structure of chitosan opens the door to numerous chemical modifications to broaden its application area. In fact, modification of chitosan by low molecular weight phenolic compound that are covalently linked to its polymer chain is a one way to stabilize a phenolic component, improve its bioavailability and get compounds with different properties useful for agriculture.

In this regard, the aim of the work was to study the effect of conjugates based on chitosan and hydroxycinnamic acids on the development of microclone potato plants *in vitro*. The object of the research work is the potato plants from the collection of the Research and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for potato, fruit and vegetable growing. In order to be used as primary explants developed stems of potato plants were cut into nodal sections consisting of a single node and leaf and transferred to Murashige-Skoog (MS) medium (30 $g.l^{-1}$ sucrose and 14 $g.l^{-1}$ agar) according to the scheme: Control (standard MS medium); Chitosan (MS medium with added 30 kDa chitosan, c=0.025 $mg.ml^{-1}$); CA (MS medium with added caffeic acid, c=0.025 $mg.ml^{-1}$); Chitosan-CA (MS medium with added chitosan-caffeic acid conjugate, c=0.025 $mg.ml^{-1}$); FA (MS medium with added ferulic acid, c=0.025 $mg.ml^{-1}$); Chitosan-FA (MS medium with added chitosan-ferulic acid conjugate, c=0.025 $mg.ml^{-1}$). Cultures were maintained under the 16/8 hours light/dark photoperiod with 3000 lux light intensity at 25±1 °C. *In vitro* growth potato plants were harvested to analyze the effect of added to the MS medium chitosan-hydroxycinnamic acid conjugates on morphometric and biochemical parameters such as content of photosynthetic pigments, hydrogen peroxide and proline, process of lipid peroxidation.

It has been established that a significant growth-stimulating effect is achieved by the addition to the cultivation medium caffeic acid and its chitosan-based conjugate. The chitosan-caffeic acid conjugate has a greater effect on the development of the aerial parts of microclonal potato plants, while significantly increasing the content of hydrogen peroxide and Malone dialdehyde (MDA) compared to the control group, as well as the accumulation of proline in the roots compared to caffeic acid and control. The hydroxycinnamic acids and chitosan contributed to the accumulation of chlorophyll content and increase the chlorophyll photosynthetic potential in potato microclones compared to control plants. In turn, the addition of chitosan-caffeic acid conjugate to the cultivation medium promoted formation of more optimal structure of the photosynthetic apparatus of microclone potato plants which provided high rates of biomass accumulation as indicated by calculation per unit of chlorophyll and plant development. Probably, the conjugate of chitosan and caffeic acid can be considered as a low stress factor that leads to the activation of metabolism and adaptation processes in plants. Chitosan behaved like a general elicitor inducing oxidative stress in plant cell as indicated by a significant accumulation of lipid peroxidation product – Malone dialdehyde (MDA) and a high content of proline in plant tissues. Ferulic acid was more effective than its conjugate even though both stimulated the root formation. In turn, hydroxycinnamic acids showed a strongly marked antioxidant properties by reducing the formation of reactive oxygen species as well as stress-induced accumulation of proline.

The findings of the present research work confirm applying of chitosan-caffeic acid and chitosan-ferulic acid conjugates on microclone potato plants to improve their growth and development.

Роль гормональной и антиоксидантной систем в реализации протекторного действия 24-эпибрассинолида на растения пшеницы в условиях засоления

***Авальбаев А.М.*[*], *Аллагулова Ч.Р.*[*], *Зикрина И.И.*[**], *Юлдашев Р.А.*[*], *Шакирова Ф.М.*[*]**

[*] Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, пр. Октября, 71, Уфа, Россия;
[**] ФГБОУ ВО Башкирский государственный университет, ул. Заки Валиди, 32, Уфа, Россия.
avalbaevam@yandex.ru

Засоление относится к наиболее распространенным повреждающим факторам среды, существенно лимитирующим рост и продуктивность растений. В защиту растений от абиотических стрессовых воздействий, в том числе и засоления, вовлекаются фитогормоны, в частности, брассиностероиды (БС), которые сочетают в себе свойства стимуляторов роста и индукторов защитных реакций. Поскольку рост и развитие растений находится под контролем гормональной системы в целом, можно было ожидать влияния БС на концентрационные изменения других фитогормонов. В проведенных нами исследованиях было выявлено, что в ходе обработки растений пшеницы 24-эпибрассинолидом (ЭБ), активным представителем БС, наблюдается стойкое двукратное увеличение количественного уровня цитокининов (ЦК) с одновременным отсутствием эффекта на содержание ауксина и АБК. Воздействие засоления вызвало существенные сдвиги в гормональном балансе растений пшеницы, связанные с резким повышением уровня АБК и последовательным уменьшением содержания ИУК и ЦК. Предобработка растений пшеницы ЭБ способствует снижению стресс-индуцированного накопления АБК и полному предотвращению снижения количественного уровня ЦК. Важный вклад в регуляцию 24-эпибрассинолидом содержания эндогенных цитокининов в растениях пшеницы вносит способность ЭБ модулировать новообразование ЦК, а также экспрессию гена и активности цитокининоксидазы - ключевого фермента деградации ЦК. Это позволило нам предположить, что эндогенные цитокинины играют важную регуляторную роль в реализации физиологического действия ЭБ, в том числе и его протекторного эффекта, поскольку известно, что ЦК характеризуются способностью повышать устойчивость растений. В связи с тем, что засоление приводит к окислительному стрессу, обусловленному накоплением активных форм кислорода (АФК), то активация ЭБ также и антиоксидантной защиты может вносить существенный вклад в протекторный эффект гормона. Действительно, воздействие солевого стресса на проростки пшеницы приводило к более чем трехкратному увеличению концентрации АФК, после чего наблюдалось значительное возрастание активности антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы и пероксидазы. Обработка растений пшеницы ЭБ в норме сопровождалась небольшим транзиторным повышением уровня АФК, что не приводило к ингибированию роста проростков. Это, вероятно, обусловлено одновременным обратимым увеличением активности антиоксидантных ферментов в ходе обработки ЭБ. В то же время, небольшое повышение содержания АФК может способствовать проявлению предадаптирующего действия фитогормона на проростки к возможному действию стресса, в связи с тем, что АФК могут выполнять роль сигнальных молекул в запуске протекторных реакций. Вероятно, индуцируемые ЭБ небольшие транзиторные изменения в состоянии про-/антиоксидантной систем вносят значительный вклад в предадаптацию растений к последующему стрессу. Действительно, в условиях солевого стресса предобработанные ЭБ проростки имели существенно меньший уровень АФК и, соответственно, меньший уровень активации антиоксидантных ферментов в сравнении с необработанными растениями. Таким образом, ЭБ способствовал снижению повреждающего действия индуцированного засолением окислительного стресса на проростки пшеницы, что сопровождалось существенным уменьшением уровня перекисного окисления липидов и снижением экзоосмоса электролитов из тканей. Суммируя полученные данные, можно заключить, что важная роль в проявлении протекторного действия 24-эпибрассинолида на растения пшеницы в условиях засоления принадлежит модулируемым фитогормоном изменениям в гормональной и антиоксидантной системах.

Работа выполнена в рамках госзадания АААА-А21-121011990120-7 и при частичной поддержке гранта РФФИ № 20-04-00904.

pH цитозоля клеток корня *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. и *Nicotiana tabacum L.* в условиях засоления

Агеева М.Н., Игошкин Г.А., Воденеев В.А., Брилкина А.А.

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, пр. Гагарина, 23, Нижний Новгород, Россия;
ageyevamaria@gmail.com

Засоление является неблагоприятным фактором, существенно снижающим урожайность культурных растений. Одним из компонентов генерации ответа на этот стрессор является изменение pH цитозоля. Колебания уровня pH играют важную роль в поддержании ионного баланса вследствие использования протонного градиента как движущей силы для транспорта различных соединений. Также изменения pH могут выступать в качестве внутриклеточного и дальнего сигнала, участвуя в формировании системного ответа растения. При этом, ввиду различных функций и особенностей метаболизма клеток разных тканей растения, изменение уровня pH цитозоля в условиях стресса может происходить у одних типов тканей и отсутствовать у других. В литературе мы не встретили систематизированных данных о влиянии засоления на pH цитозоля клеток в разных органах и тканях растений. Использование флуоресцентного генетически кодируемого pH-чувствительного сенсора Pt-GFP позволяет неинвазивно изучать pH цитозоля клеток при различных воздействиях. Белок Pt-GFP, выделен из кораллового полипа морское перо *Ptilosarcus gurneyi* Gray. Данный сенсор отличается широким диапазоном чувствительности к pH (4,5-8,5). Pt-GFP имеет два пика возбуждения 390 и 502 нм и 1 пик эмиссии 508 нм, благодаря чему данный белок относится к ратиометрическим сенсорам, отношение флуоресцентного сигнала которых не зависит от концентрации самого белка. Целью работы стало определение изменений pH цитозоля в клетках разных зон корня растений арабидопсиса и табака обыкновенного при засолении.

Растения арабидосиса (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.), экспрессирующие в цитозоле Pt-GFP, были получены из Notthingham Arabidopsis Stock Centre (University of Nottingham, Sutton Bonington Campus, UK). Табак (*Nicotiana tabacum* L.), экспрессирующий в цитозоле Pt-GFP, был трансформирован коллективом авторов в сотрудничестве с коллегами из Института физиологии растений РАН. Трансформация табака проводилась путем кокультивирования листовых дисков табака с *Agrobacterium tumefaciens* штамма AGL0, несущей плазмиду pART27 – ptGFP (Nanolight technology, USA). Растения выращивали на среде Мурасиге-Скуга (МС) до появления сформированных семядольных листьев (7 и 12 дней для арабидопсиса и табака, соответственно) на свету (фотопериод 16/8, интенсивность освещения 55,5 мкМ м-2 с-1) при температуре 25^{0}С. Для опытных растений условия засоления создавали путём добавления в питательную среду МС NaCl в концентрациях 50 мМ и 75 мМ. В корнях контрольных и опытных растений оценивали pH цитоплазмы в клетках колумеллы, латеральных клетках чехлика и ризодермы зоны всасывания. Для этого получали LSM-изображения соответствующих клеток, экспрессирующих Pt-GFP при возбуждении 405 нм и 488 нм на конфокальном микроскопе Carl Zeiss LSM 710 (Carl Zeiss, Германия) и обрабатывали в программе ZEN 2011 SP4 (black) 11.0. Для проведения LSM-микроскопии вырезали тонкие пластинки МС-агара с проростками, которые зажимали между стекол, оставляя побег на поверхности стекла. Для установления значения pH в клетках получали зависимость флуоресценции Pt-GFP в растении от pH, инкубируя целые растения арабидопсиса и табака в буферных растворах с pH 4,5-8,5 (с шагом 0,5) в присутствии 25 мМ КЦХФГ.

Нами показано, что в корне растений арабидопсиса, произрастающих в контрольных условиях существует градиент pH цитозоля от клеток колумеллы (6,6), латеральных клеток чехлика (7,0) до клеток ризодермы зоны всасывания (7,1). Для клеток корня табака такой зависимости выявлено не было, pH цитозоля составлял 7,5-7,6 для всех исследуемых типов тканей. Засоление не вызывало изменения pH цитозоля в клетках колумеллы корней арабидопсиса и табака. В латеральных клетках чехлика, а также в клетках ризодермы зоны всасывания корней обоих видов растений происходило закисление цитозоля на 0,1-0,2 единицы pH при выращивании растений на среде с NaCl.

Таким образом, контактирующие с внешней средой клетки корня разных тканей неоднородно изменяли уровень pH в условиях засоления. При этом у арабидопсиса и табака наблюдалась сходная реакция pH цитозоля для одинаковых типов клеток. Предположительно, выявленное снижение pH в большинстве клеток может быть связано с необходимостью выведения натрия из цитозоля вследствие работы Na^+/H^+-антипортера.

Смягчение вызванных обезвоживанием окислительных повреждений в растениях пшеницы при обработке донором NO или цитокинином 6-бензиламинопурином

Аллагулова Ч.Р., Авальбаев А.М., Юлдашев Р.А., Плотников А.А., Зикрина И.И., Лубянова А.Р.

Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, 450054, Уфа, пр. Октября, 71 литер 1Е
allagulova-chulpan@rambler.ru

Оксид азота (NO) – полифункциональная сигнальная молекула, вовлекаемая в регуляцию нормального онтогенеза растений, а также в развитие их устойчивости к стрессовым факторам среды. Ранее с использованием донора NO нитропруссида натрия SNP (sodium nitroprusside) для обработки растений пшеницы нами были получены данные о его рост-стимулирующем действии, а также и защитном эффекте в условиях обезвоживания. Эти эффекты сопровождались изменениями в гормональном балансе, проявившимися, в частности, в повышении уровня цитокининов в норме и предотвращением их падения при стрессе. В связи с чем было сделано предположение, что важный вклад в реализацию регуляторного действия NO могут вносить гормоны цитокининовой природы. В данной работе был проведен сравнительный анализ влияния предобработки 3-х суточных проростков пшеницы (*Triticum aestivum* L.) SNP и цитокинином 6-бензиламинопурином (БАП) в концентрациях 200 мкМ и 0.04 мкМ, соответственно, на продукцию свободнорадикальных соединений, активность антиоксидантных ферментов, целостность мембранных структур и барьерные свойства клеточных стенок базальной части корней при воздействии обезвоживания, моделируемого 12 %-ным ПЭГ. Стрессовая обработка индуцировала окислительное повреждение и нарушение целостности мембранных структур в проростках, о чем судили по образованию супероксид аниона, накоплению малонового диальдегида (МДА) и усилению экзосмоса электролитов. В этих условиях наблюдалось активация супероксиддисмутазы (СОД) и пероксидазы (ПО), и повышение отложение лигнина в клеточных стенках корней. Под влиянием предобработки SNP или БАП наблюдалось сопоставимое по уровню снижение стресс-индуцируемых сдвигов в про-/антиоксидантном равновесии проростков, содержании МДА и повреждений целостности мембран. Кроме того, оба регулятора роста способствовали укреплению барьерных свойств клеточных стенок, на что указывают данные о дополнительном отложении лигнина в базальной части корней проростков пшеницы. Совокупность полученных результатов может свидетельствовать в пользу ранее высказанного предположения об участии цитокининов в реализации регуляторного действия NO в растениях пшеницы при воздействии дефицита влаги.

Работа выполнена за счет средств гранта РНФ № 22-24-00196.

Влияние цитоплазматического потока на индукционные процессы фотосинтеза *Chara australis*

Алова А.В., Шапигузов С.Ю., Черкашин А.А., Булычев А.А.

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Ленинские горы, 1, Москва, Россия.
annaalova@gmail.com

Быстрое течение цитоплазмы у харовых водорослей служит средством поддержания связей между неравномерно освещенными участками гигантских клеток. Метаболиты, экспортируемые из ярко освещенных хлоропластов, распространяются по междоузлию с потоком жидкости и вызывают переходные изменения флуоресценции (Фл) хлорофилла (Хл) в участках, находящихся на слабом свету или кратковременно оказавшихся в темноте. Наибольшее расстояние, на которое могут транспортироваться фотометаболиты, в настоящее время не определено. Неизвестно также, влияет ли латеральный транспорт на индукцию Фл Хл.

Индукционные изменения флуоресценции хлорофилла в растениях связаны с фотосинтетическим переносом электронов, генерацией градиента протонов и образованием углеводов в цикле фиксации CO_2. В индукционной кривой флуоресценции зеленых растений и водорослей выделяют быстрые и медленные стадии, причем о природе задержанного нарастания флуоресценции (S-M) известно гораздо меньше, чем о мультифазном нарастании O-J-I-P. Реакции фотосинтеза сопровождаются также выведением фотопродуктов из освещенных хлоропластов и их переносом на дальние расстояния. Обмен метаболитов через оболочку хлоропластов осуществляют переносчики, которые активны на свету и теряют активность в темноте. Однако, сведения о влиянии переноса субстратов и метаболитов через оболочки хлоропластов на индукционные процессы у харовых водорослей, а также о роли дальнего транспорта с потоком цитоплазмы в этих процессах отсутствуют.

Для изучения дальних внутриклеточных и межклеточных взаимодействий были использованы клетки харовых водорослей *Chara australis*. За изменениями Фл хлоропластов следили с помощью метода импульсно-модулированной микрофлуорометрии хлорофилла. В экспериментах использовали несколько подходов и типов воздействий: комбинации различных световых условий (различная интенсивность действующего света и размер освещаемой области, локальное освещение ярким светом небольшого (400 мкм) участка клетки, переходы темнота – свет), замедление и остановка потока цитоплазмы под действием ингибитора или при генерации ПД, а также изменения температуры окружающей среды в диапазоне 8-35 °C. Контролируемое изменение указанных факторов во многом соответствует вариабельности природных условий и позволяет глубже проанализировать процессы дальнего транспорта метаболитов, сигнализации и регуляции в клетках растений.

В работе проведено сравнительное изучение дальних взаимодействий между неподвижными хлоропластами в междоузлиях харовых водорослей и индукционных кривых Фл Хл. Дальняя передача сигналов между пространственно разделенными частями междоузлия проявлялась по изменению Фл Хл в ответ на локальное освещение участка клетки удаленного от области измерения Фл на расстояния до 10 мм при условии, что область освещения располагалась выше по течению в потоке цитоплазмы. Дистанционные взаимодействия в гигантских интернодальных клетках проявлялись также в различиях индукционных кривых Фл Хл, вызванных узкопольным и широкопольным освещением. В качестве средств воздействия на опосредованные циклозом дистанционные взаимодействия использовали ингибитор актина цитохалазин D, охлаждение омывающего раствора и инактивацию светозависимых переносчиков оболочки. Установлено, что кривые индукции Фл, регистрируемые при узкопольном и широкопольном освещении, сильно различаются в контрольных условиях, но приобретают одинаковую форму и амплитуду после подавления потока цитоплазмы цитохалазином D. Результаты говорят о том, что медленное нарастание Фл в индукционный период в клетках харовых водорослей определяется не только фотосинтетической активностью исследуемого участка, но и взаимодействиями между анализируемой областью и соседними частями клетки. При остановке движения цитоплазмы под действием цитохалазина D локальное и общее освещение вызывали примерно равные индукционные изменения Фл, что говорит о разобщении дальних взаимодействий. Результаты показывают, что поток жидкости не только переносит метаболиты от освещенных к затененным частям клетки, но и облегчает экспорт фотометаболитов из хлоропластов в цитоплазму за счет непрерывного промывания поверхности хлоропластов и поддержания необходимых концентрационных градиентов.

Транс-фактор TCP13 не принимает участия в регуляции экспрессии хлоропластного гена *psbD Arabidopsis thaliana*

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

Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева РАН, Ботаническая ул., 35, Москва, Россия
alexaa27@mail.ru

Среди транс-факторов, участвующих в регуляции транскрипции пластидных генов Arabidopsis, наибольшей известностью пользуются шесть сигма-факторов, которые взаимодействуют с мультисубъединичной РНК-полимеразой бактериального типа (PEP) и определяют специфичность транскрипции пластидных генов. Вместе с тем в регуляцию экспрессии органелл могут быть вовлечены дополнительные эукариотические белки, которые должны иметь консервативные домены, характерные для транс-факторов, и сигнальные пептиды, направляющие эти белки в органеллы. К их числу принадлежит белок PTF1/TCP13 (PLASTID TRANSCRIPTION FACTOR 1/(TEOSINTE BRANCHED1/CYCLOIDEA/PCF) из семейства TCP, содержащий мотив bHLH (basic helix-loop-helix). PTF1регулировал экспрессию хлоропластного гена *psbD*, кодирующего D2 белок фотосистемы II, связываясь с мотивом ACC свето-регулируемого промотора *BLRP*. Однако выводы в отношении биологических функций PTF1 оспаривались Kodama и Sano, которые отрицали локализацию белка в ядре и его участие в регуляции транскрипции *psbD* с промотора *BLRP.* Спорные аргументы относительно роли и клеточной локализации PTF1 требуют дополнительной экспериментальной переоценки биологических функций этого транс-фактора, Проведенные нами эксперименты с использованием трансформанта из коллекции линий TRANSPLANTA, у которого ген *PTF1* экспрессировался под действием *β*-эстрадиола, показали, что *у*величение экспрессии гена PTF1 на среде с β-эстрадиолом не способствовало ожидаемому росту накопления продукта гена *psbD/BLRP.* При этом уровень матриц psbD, транскрибируемых с промотора BLRP, как и ожидалось, существенно увеличивался под действием света и *АБК*, хотя количество матриц *psbD,* транскрибируемых с других промоторов этого гена, практически не изменялось. Следует заметить, что светозависимая транскрипция *psbD н*е снижалась и у мутантов *ptf1* с подавленной экспрессией *PTF1*, *хотя* у мутанта с инактивированным геном *SIG5* экспрессия *psbD/BLRP*, транскрибируемого при участии этого сигма-фактора, была полностью подавлена. Суммируя эти данные, следует признать, что PTF1 не является транскрипционным фактором пластид. Вместе с тем, он может представлять собой один из АБК-индуцируемый транс-факторов, опосредовано связанных с регуляцией экспрессии пластидного генома при стрессах.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 20-14-00065).

Изменение уровня метилирования промотора гена *ssadh-1* сукцинат-семиальдегиддегидрогеназы в листьях кукурузы при адаптивной реакции клеточного метаболизма к действию солевого стресса

Анохина Г.Б., Шахов З.Н., Москвитина П.П., Андрюхин А.А., Епринцев А.Т.

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», Университетская пл. 1, г. Воронеж, Россия
dowi2009@mail.ru

Известно, что шунт γ-аминомасляной кислоты (ГАМК) в растениях активируется в ответ на действие различных абиотических стрессов, к которым относят засуху, засоление, гипоксию и т.п. явления. Сукцинат-семиальдегиддегидрогеназа (ССАДГ; КФ 1.2.1.24), участвуя в финальной стадии разложения гамма-аминомасляной кислоты в матриксе митохондрий, осуществляет высокоспецифичное каталитическое превращение сукцинилового полуальдегида в сукцинат. В настоящее время в геноме кукурузы обнаружено два гена, кодирующих ССАДГ: ген *ssadh-1* (LOC100284047 и ген *ssadh-2* (LOC100280779). Несмотря на то, что данных, посвященных участию ГАМК-шунта в адаптивной реакции клеточного метаболизма к действию стрессовых факторов, достаточно, до сих пор не выясненным остается механизм регуляции работы ССАДГ при засолении. Целью данной работы являлось исследование влияния степени метилирования на динамику экспрессии гена *ssadh-1* сукцинат-семиальдегиддегидрогеназы в зеленых листьях кукурузы при действии солевого стресса. В качестве объекта использовались листья 10 дневной кукурузы сорта Воронежская-76, выращенные гидропонно. Индукция солевого стресса осуществлялась путём помещения растений с предварительно удаленной корневой системой в 0.15 М раствор NaCl на 24 часа. Контрольная группа растений инкубировалась в воде. Анализ относительного уровня транскриптов гена *ssadh-1* осуществлялся по результатам ПЦР в реальном времени с использованием в качестве матрицы кДНК, полученной в ходе реакции обратной транскрипции (MMLV-RT kit, ЗАО «Евроген»). В качестве интеркалирующего красителя применялся Sybr Green I. Специфические праймеры к гену *ssadh-1* были подобраны на основе нуклеотидной последовательности, представленной в международной базе данных NCBI. Анализ промоторов исследуемых генов на наличие CpG-островков и подбор праймеров для МС-ПЦР осуществляли с помощью онлайн-сервиса MethPrimer. Для исследования метильного статуса отдельных CpG-динуклеотидов в промоторах исследуемых генов проводили метил-специфичную ПЦР с применением ScreenMix (ЗАО «Евроген», Москва).

Анализ динамики относительного уровня транскриптов гена *ssadh-1* показал, что инкубация проростков кукурузы в 150 мМ растворе хлорида натрия приводит к более чем двукратному увеличению экспрессии, достигая максимума на 3 час инкубации, что превышало контрольные значения почти в 7 раз. В дальнейшем, уровень мРНК исследуемого гена снижался таким образом, что к 24 часу эксперимента значения относительного уровня транскриптов в опытной группе лишь в 1.5 раза были выше данного показателя, чем в контроле.

В связи с тем, что регуляция некоторых ферментов ЦТК осуществляется эпигенетически за счёт изменения степени метилирования как отдельных CpG – динуклеотидов, так и CpG – динуклеотидов в составе CpG-островка, нами был проведен предварительный анализ промотора гена *ssadh-1* на наличие специфических сайтов метилирования. Было показано, что в его составе не содержится ни одного CpG-островка, что, однако, не исключает возможности контроля экспрессии гена посредством смены метильного статуса, поскольку у растительных организмов, в отличие от животных, метилирование цитозина возможно не только по сайтам CpG, но также по сайтам CpNpG и CpNpN, где N–A, T или C. В промоторе гена *ssadh-1* присутствуют порядка 32.4% сайтов CpNpN и 8.4% сайтов CpNpG.

Подбор метил-специфичных праймеров к отдельным CpG-динуклеотидам в составе промотора гена *ssadh-1* позволил обнаружить корреляцию между динамикой изменения концентрации транскриптов и метильным статусом исследуемых CpG-динуклеотидов в листьях кукурузы в условиях солевого воздействия. Увеличение экспрессионной активности гена *ssadh-1* на третий час солевого воздействия сопряжено с уменьшением степени метилирования CpG-динуклеотидов промотора с 75 до 50%. В то же время, в контрольной группе растений степень метилирования промотора оставалась на уровне 75% на протяжении всего эксперимента.

Таким образом, показано, что регуляция экспрессии гена *ssadh-1* сукцинат-семиальдегиддегидрогеназы в условиях солевого стресса осуществляется эпигенетически посредством изменения степени метилирования CpG-динуклеотидов, входящих в состав его промотора.

Гуминовые кислоты увеличивают содержание фенольных соединений в капусте кейл (*Brassica oleracea* L)

Антех Д.Д., Мостякова А.А., Тимофеева О.А.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Кремлевская ул., 18, Казань, Россия
otimoofeeva2008@mail.ru

Формирование представлений о том, что с помощью специализированного питания можно снизить риски возникновения многих болезней, создало рынок функциональных продуктов питания и нутрицевтиков, то есть продуктов, которые не только утоляют голод, но и обеспечивают профилактику и/или лечение заболеваний. В связи с этим поиск новых биологических ресурсов, и прежде всего, растительных, которые можно было бы использовать для получения таких функциональных продуктов питания, является очень актуальным. Если говорить о листовой капусте кейл, то при ее активном продвижении на рынке функциональных продуктов следует обеспечить производителей технологиям, которые обеспечили бы ее круглогодичное выращивание с максимальным содержанием «целевых» групп биологически активных веществ.

Наши исследования продемонстрировали возможность выращивания капусты кейл в условиях закрытого грунта без значительных потерь в содержании фитохимических веществ и антиоксидантных свойств. Нами установлено, что полезные свойства капусты кейл в профилактике и лечении различных заболеваний во многом определяются именно ее высокими антиоксидантными свойствами.

Проведенные исследования показали необходимость применения различных минеральных подкормок для улучшения вкусовых, питательных качеств *Brassica oleracea* L.и повышения синтеза различных антиоксидантов и, прежде всего, фенольных соединений. Наиболее перспективными среди изученных минеральных добавок оказались комплексы гуминовых кислот с микроэлементами. Основными флавонолами, обнаруженными в капусте кейл, были кверцетин, кемпферол и изорамнетин, а наиболее распространенными нефлавоноидными фенолами - п–кумаровая, синнаповая и феруловая кислоты. Самый богатый спектр фенольных соединений обнаружен у растений, обработанных гуматами.

Минеральная подкормка капусты кейл стимулировала накопление транскриптов генов, связанных с биосинтезом фенольной кислоты, гидроксицинамоилтрансфераз (*HCT*), в большей степени, чем генов, связанных с биосинтезом флавоноидов, флаванон 3-гидроксилазы (*F3H*) и халкон-синтазы (*CHS*). Эти данные согласуются с увеличением содержания фенольных соединений под влиянием изученных минеральных добавок. Следует отметить, что при обработке гуматами доминирующим пиком был кверцетин, так же, как и максимальная экспрессия гена фермента F3’H, участвующего в синтезе кверцетина.

Физиолого-биохимические аспекты морозоустойчивости почек *Larix sibirica* Ledeb на Европейском Северо-Востоке

Атоян М.С., Малышев Р.В.

Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, Коммунистическая ул.28, Сыктывкар, Россия.
marinka140895@mail.ru

Подзона средней тайги на европейском Северо-Востоке России характеризуется умеренно-континентальным климатом с холодной и продолжительной зимой. Частое вторжение арктических масс воздуха сопровождается резкими похолоданиями, при которых температура воздуха может опускаться до -30..-40°С. Начало безморозного периода со средней суточной температурой выше 0 °С наступает в середине апреля, а переход через +5°С наблюдается в начале мая. Возврат холодов и заморозки отмечаются вплоть до середины июня. Особо чувствительны к низким температурам меристематические ткани почек. Это относится даже к такому холодоустойчивому виду как *Larix sibirica*. Известно, что процесс перехода растений в состояние глубокого покоя сопровождается комплексом структурных и функциональных перестроек, обеспечивающих их сохранение в осенне-зимний период. Покоящиеся почки характеризуются отсутствием внешних признаков роста, высокой устойчивостью к обезвоживанию и неблагоприятным воздействиям среды, в первую очередь, низким отрицательным температурам. Этому способствует накопление в почках ингибиторов роста и защитных веществ, а также содержание и состояние воды в них. Оценка морозостойкости основных лесообразующих пород на основе сравнительного изучения сезонных изменений температуры замерзания воды, оводненности, содержания свободной и связанной воды в вегетативных почках древесных растений представляет теоретический и практический интерес. Почки отбирали в конце октября, начале ноября и в конце марта начале апреля. В работе использовали метод дифференциальной сканирующей калориметрии. Измерения температуры кристаллизации и доли замерзшей воды в почках проводили на калориметре DSC – 60 Shimadzu (Япония). Основными причинами гибели клетки при низких отрицательных температурах является льдообразование, в результате чего происходит обезвоживание и механическое повреждение клеточных структур кристаллами льда. Последствия воздействия низких отрицательных температур в значительной степени зависят от оводненности тканей растения, содержания свободной и связанной воды. Наименьшей оводненностью почки *Larix sibirica* характеризовались в октябре, ноябре (0,9 г H_2O/г сухой массы), в середине весны содержание воды было несколько выше (1,6 г H_2O/г сухой массы). Доля связанной (не замерзающей) воды составляла около 25 % от общего содержания воды в почках в октябре и марте. Сохранение жизнеспособности растений при действии низких температур связано с изменением содержания внутриклеточной воды и биохимическими превращениями в меристемах. Оценка температуры замерзания воды показала, что фазовый переход претерпевала фракция свободной воды, в октябре вода замерзала при температуре около -8,0 ± 0,3°С, в марте величина этого показателя не изменялась и составляла около -8,7 ± 1,5 °С. Для предотвращения замерзания воды в растительных клетках синтезируется значительное количество криопротекторных соединений (аминокислот, сахаров, растворимых белков и др.), которые способны связывать свободную воду, тем самым предотвращая образование кристаллов льда. В почках *Larix sibirica* было идентифицировано наличие фруктозы, глюкозы, сахарозы и раффинозы. В октябре содержание растворимых углеводов в сухой массе почек составляло около 10%. Весной с началом сокодвижения на фоне увеличения оводненности тканей почек лиственницы нами отмечен рост пула растворимых сахаров в 1.5-2 раза; в основном за счет увеличения концентрации моносахаров. Кроме того в апреле выявлено двукратное повышение растворимого белка в почках, до 20 мг/г сухой массы. Параллельно с повышением содержания белка наблюдается снижение в почках свободных аминокислот с 9.6 до 3 мг/г сухой массы в октябре и марте соответственно, что коррелирует с увеличением уровня растворимого белка. Уменьшение количества свободных аминокислот происходило без заметных качественных изменений аминокислотного состава. Основную долю (66%) свободных аминокислот составляли амиды в основном глютамин. Анализ жирнокислотного состава показал, что в осенью и весной в почках около 60 % суммы всех жирных кислот приходилось на ненасыщенные кислоты линолевую и линоленовую, что способствовало сохранению текучести липидного бислоя мембран. На основании полученных данных можно предположить, что повышение криорезистентности почек *Larix sibirica* к началу зимы в большей степени связано со снижением оводненности тканей. С началом сокодвижения оводненность почек *Larix sibirica* закономерно увеличивалась, возрастало и количество связанной воды, что, по-видимому, обусловлено повышением концентрации гидрофильных молекул, растворимых углеводов и белков. Увеличение количества связанной воды в почках в весенний период позволяет снизить риск внутриклеточного льдообразования.

Особенности строения камбиальной зоны у деревьев *Pinus sylvestris L.* разного возраста

Афошин Н.В., Тарелкина Т.В., Галибина Н.А., Мошников С.А., Иванова Д.С., Семенова Л.И.

Институт леса - обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук», г. Петрозаводск, Россия.
afoshin@krc.karelia.ru

Формирование проводящих тканей ствола ксилемы (древесины) и флоэмы происходит в результате деятельности камбия, основной латеральной меристемы ствола. Известно, что число клеток, откладываемых камбием в течение вегетационного периода в сторону ксилемы, снижается по мере увеличения возраста дерева. Однако особенности строения камбиальной зоны у деревьев разного возраста практически не изучались.

В качестве объекта исследования были выбраны деревья сосны обыкновенной *Pinus sylvestris* L., произрастающие в сосняках брусничных разного возраста (30, 70-80 и 180 лет) на территории заповедника «Кивач» (Республика Карелия). В каждой возрастной группе было подобранно по 5-7 модельных деревьев. В мае 2021 года с модельных деревьев на высоте 1,5 м были отобраны керны для определения характеристик ксилемы. Затем в июне 2021 в период активного камбиального роста были отобраны образцы, включающие камбиальную зону и формирующиеся проводящие ткани. С фрагментов кернов, содержащих 5 последних годичных приростов, с помощью замораживающего микротома Frigomobil (Reichert–Jung, Germany) изготавливали тонкие срезы, на которых подсчитывали число клеток ксилемы в радиальном ряду и измеряли годичные приросты ксилемы. Образцы, включавшие клетки камбиальной зоны фиксировали в смесь эпоксидных смол. Затем на ультратоме LKB IV (LKB, Sweden) изготавливали тонкие срезы, на которых подсчитывали число клеток в камбиальной зоне и измеряли ширину камбиальной зоны.

Измерение количественных показателей на микрофотографиях проводились с использованием программы ImageJ. Полученные данные обрабатывались в программе Statistika.

Анализ полученных результатов показал, что деревья сосны разного возраста достоверно отличались по ширине приростов ксилемы за период 2016-2020 гг., которые составляли у 30-, 70-, 80- и 180-летних деревьев в среднем 1.6, 0.9 и 0.7 мм соответственно. Достоверные различия были выявлены и по числу клеток ксилемы в радиальном ряду 42 шт. у 30-летних деревьев, 25 шт. у 70-80-летних деревьев и 20 шт. 180-летних деревьев. Сравнение групп деревьев разного возраста по характеристикам камбиальной зоны показало, что ширина камбиальной зоны и число клеток камбия в радиальном ряду были меньше у 30-летних деревьев по сравнению с деревьями двух других возрастных групп, у которых эти показатели достоверно не различались. На основании полученных данных сделан вывод о том, что более широкие приросты ксилемы у 30-летних деревьев, очевидно, не связаны с большим числом активно делящихся клеток в камбиальной зоне. Наблюдаемые различия могут быть обусловлены более продолжительным периодом камбиальной активности у молодых деревьев сосны.

Исследование выполнялось в рамках Гранта РНФ № 21-14-00204 «Закономерности формирования ядровой древесины у сосны обыкновенной в диапазоне климатических условий: физиолого-биохимические и молекулярно-генетические механизмы».

Влияние пероксида водорода на фосфорилирование/дефосфорилирование белков антенны фотосистемы 2

Балашов Н.В., Ветошкина Д.В., Борисова-Мубаракшина М.М.

Институт Фундаментальных Проблем Биологии РАН, ул. Институтская, 2, Пущино, Россия.
kbalashovv@mail.ru

Обратимое фосфорилирование белков светособирающего комплекса фотосистемы 2 (ССК 2) играет важную роль в адаптации растений к условиям освещения – ключевого фактора для функционирования фотосинтезирующих организмов. Данный защитный механизм представляет собой краткосрочную адаптацию фотосинтетического аппарата и запускается при переходе от ночного к дневному периоду или при изменении спектрального состава света и называется в англоязычной литературе state transitions, т.е. переходы состояний. В ходе state transitions происходит фосфорилирование и дефосфорилирование белков внешней антенны ССК 2 – Lhcb1 и Lhcb2; при этом фосфорилирование данных белков приводит к миграции комплексов антенны ССК 2, содержащих эти белки, от фотосистемы 2 к фотосистеме 1, а при дефосфорилировании – их возвращение от фотосистемы 1 к фотосистеме 2.

Активные формы кислорода, и, в частности, пероксид водорода, являются одними из сигнальных молекул, участвующих в различных адаптационных механизмах в фотосинтетическом аппарате зеленых водорослей и высших растений. Роль пероксида водорода в обратимом фосфорилировании белков ССК 2, хоть и была предположена, в том числе и в наших работах, все еще не доказана.

В представленной работе проведено исследование влияния пероксида водорода на протекание процесса state transitions: проведена оценка накопления фосфорилированных белков Lhcb1 и Lhcb2 в изолированных тилакоидах растений *Arabidopsis thaliana* в присутствии и отсутствие пероксида водорода при низкой интенсивности света. Оценено влияние добавки каталазы – фермента, разлагающего пероксид водорода, – на уровень фосфорилированных Lhcb1 и Lhcb2 белков при высокой интенсивности света. Впервые показано влияние пероксида водорода на протекание процесса state transitions.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта Президента РФ для государственной поддержки молодых российских ученых - кандидатов наук №МК-4743.2022.1.4

Влияние иммуностимуляторов на устойчивость растений картофеля к вирусному заражению

Балюк Н.В., Ламан Н.А., Калацкая Ж.Н.

Институт экспериментальной ботаники НАН Беларуси, г. Минск, Республика Беларусь
balyuck.natalya@yandex.ru

В последние двадцать лет в Беларуси произошли существенные изменения в фитопатологической ситуации на картофеле. Особенно возросла вредоносность вирусных болезней, что связано со сменой штаммового состава их возбудителей, а также с изменением численности и видового состава тлей – основных переносчиков вирусов. В настоящее время одним из наиболее вредоносных вирусов картофеля считаются изоляты PVY (*Potato virus Y*), способные вызывать до 80 % потери урожая картофеля в зависимости от региона, сорта и различных факторов окружающей среды. Одно из наиболее перспективных направлений защиты сельскохозяйственных культур – повышение иммунного статуса растений за счет применения иммуностимуляторов, позволяющих индуцировать естественные защитные механизмы. К числу индукторов базовой устойчивости в мире интенсивно исследуют действие на растения салициловой кислоты (СК), жасмоновой кислоты и брассиностероидов, таких как 24-эпибрассинолид (ЭБ). Молекулярные исследования дают представление о том, что существуют перекрестные связи между брассиностероидами и другими фитогормонами. Целью работы являлось исследование влияния смесей ЭБ с метиловым эфиром жасмоновой кислоты (МеЖ) и/или СК на формирование устойчивости растений картофеля к вирусному заражению.

Опыты проведены на микроклонально размноженных растениях сорта Бриз. Адаптацию растений-регенерантов осуществляли на торфяном почвогрунте с добавлением элементов питания. Адаптированные растения обрабатывали путем опрыскивания листовой поверхности ЭБ в концентрации 10^{-7}моль/л с МеЖ – 1×10^{-7}моль/л и/или СК – 1×10^{-6} моль/л. Заражение PVY проводили через 3 суток после обработки препаратами.

Проведенный сравнительный анализ степени заражения PVY листьев картофеля выявил различия в вариантах с обработкой иммуностимуляторами. Предварительное опрыскивание ЭБ, в том числе в сочетании с СК и МеЖ снижало на 31–43% накопление вирусных частиц в листьях. Повышение устойчивости картофеля к PVY под влиянием комплекса ЭБ с сигнальными молекулами может быть связано с изменением концентрации H_2O_2 в тканях растений. Полученные результаты показали, что концентрация H_2O_2 в обработанных растениях была значительно ниже, чем в зараженном необработанном контроле. Максимальное снижение на 30% относительно инфицированных растений наблюдалось при обработке ЭБ+МеЖ. Варьирование концентрации H_2O_2 в листьях растений в процессе вирусного заражение может происходить в результате изменения активности антиоксидантных ферментов. Так, при заражении растений PVY наблюдалось повышение активности пероксидазы, обработка иммуностимуляторами усиливала этот эффект. Однако обработка ЭБ в сочетании с МеЖ, наоборот, приводила к снижению активности пероксидазы у инфицированных растений. Вероятно, регуляция содержания H_2O_2 в растениях картофеля под действием сочетания сигнальных молекул может происходить в результате их модулирующего воздействия на активность пероксидазы. Изменения уровней активных форм кислорода в клетках, подверженных стрессу, часто сопровождаются изменениями фотосинтетической активности. Заражение PVY тканей листа вызывало снижение общего содержания хлорофиллов, между тем, предобработка иммуностимуляторами, наоборот, приводила к увеличению суммы пигментов. Снижение содержания суммы хлорофиллов может быть связано с образованием высокой концентрации перекиси водорода, вызывающей повреждение хлорофилла и тилакоидной мембраны.

Таким образом, заражение листьев картофеля PVY вызывает формирование ответных защитных реакций у растений, сопровождающихся повышенной концентрацией перекиси водорода, активацией общей активности пероксидазы и уменьшением содержания суммы хлорофиллов. Обработка растений картофеля ЭБ в сочетании с МеЖ обеспечивала снижение содержания вирусных частиц в тканях листа, уменьшение концентрации H_2O_2 и общей активности пероксидазы, повышение содержания фотосинтетических пигментов, что по сравнению с другими обработками, вероятно, свидетельствует о наиболее эффективном синергетическом составе для преодоления неблагоприятного воздействия вирусной инфекции картофеля.

Авторы выражают благодарность сотрудникам РУП «НПЦ НАН Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству» и Института биоорганической химии НАН Беларуси за предоставленный вирусный материал и 24-эпибрассинолид.

Влияние салициловой кислоты на устойчивость пшеницы к дефициту цинка

Батова Ю.В., Игнатенко А.А., Таскина К.Б., Казнина Н.М.

Институт биологии КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН»
batova@krc.karelia.ru

В настоящее время во многих странах мира серьезной проблемой является недостаток микроэлементов в почве, что ведет к снижению продуктивности культурных растений. В связи с этим активно ведется поиск путей решения этой проблемы. Одним из перспективных направлений является применение экологически безопасных синтетических регуляторов роста, которые способны повышать устойчивость растений к неблагоприятным факторам среды и, как следствие, их урожайность. К таким соединениям, в частности, относится салициловая кислота (СК) – полифункциональный регулятор роста фенольной природы, сочетающий в себе свойства стрессового гормона и сигнальной молекулы. Доказано, что обработка растений СК способна повышать их устойчивость к целому ряду стресс-факторов, таких, например, как низкие и высокие температуры, засуха, засоление, тяжелые металлы. Однако возможность ее использования в качестве индуктора устойчивости растений к дефициту микроэлементов практически не изучена.

Целью данного исследования было изучение влияния двух способов обработки СК растений пшеницы на их рост, содержание в листьях фотосинтетических пигментов, интенсивность окислительных процессов и общую активность ключевых антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ) и гваякол-зависимой пероксидазы (ГвПО) в оптимальных условиях минерального питания и при дефиците цинка в субстрате. Растения пшеницы с. Злата выращивали в сосудах с песком в контролируемых условиях при температуре воздуха 22 ºС, относительной влажности 60-70%, ФАР 100 мкмоль/м^2·с, 14-часовом фотопериоде. Полив контрольных растений осуществляли питательным раствором Хогланда-Арнона с оптимальным содержанием цинка (2 мкМ, контроль). В опытных вариантах соль цинка в питательный раствор не добавляли. В опыте было использовано два способа обработки СК: замачивание семян перед посевом на 24 часа в растворе СК с концентрацией 10 мкмоль/л и опрыскивание растений раствором СК с концентрацией 100 мкмоль/л в фазу 3-х листьев. Концентрация СК для разных способов обработки была подобрана в предварительных экспериментах. Отбор растений для анализа проводили спустя 27 сут. после посева. Об интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ) судили по накоплению в клетках малонового диальдегида (МДА). Содержание хлорофиллов, каротиноидов, МДА и активность антиоксидантных ферментов определяли спектрофотометрически с использованием СФ-2000 («Спектр», Россия).

Проведенные исследования показали, что у необработанных СК растений дефицит цинка не оказывал негативного влияния на рост и количество фотосинтетических пигментов, но вызывал некоторое увеличение содержания МДА (на 12% по отношению к контролю) в листьях, что говорит об интенсификации окислительных процессов. Анализ активности антиоксидантных ферментов показал, что активности КАТ и ГвПО сохранялись на уровне контрольных растений, тогда как общая активность СОД заметно (на 28 % по отношению к контролю) снижалась. Оба способа обработки СК в оптимальных условиях минерального питания не повлияли на рост растений, но способствовали некоторому уменьшению содержания МДА в листьях, которое наблюдалось на фоне увеличения активности КАТ. Опрыскивание вегетирующих растений СК, помимо этого, приводило к повышению содержания в листьях зеленых пигментов.

В условиях дефицита цинка у растений, обработанных СК, показатели роста также сохранялись на уровне контроля. При этом в листьях наблюдалось значительное увеличение содержания хлорофиллов (на 30% по отношению к контролю), а в варианте с обработкой семян еще и каротиноидов (на 30% по отношению к контролю). Помимо этого оба способа обработки СК способствовали увеличению активности СОД, причем примерно в равной степени. Хотя в целом активность этого фермента в условиях дефицита цинка, и после обработки СК не достигала уровня контрольных растений. Активность ферментов, нейтрализующих перекись водорода, при этом либо не менялась (КАТ), либо заметно снижалась (ГвПО) по отношению к контролю. Тем не менее, содержание МДА в клетках после обработки растений СК уменьшалось, причем в большей степени после опрыскивания.

Таким образом, оба способа обработки СК положительно сказываются на растениях пшеницы, испытывающих дефицит цинка, вызывая увеличение количества фотосинтетических пигментов и активности СОД в листьях, а также снижение интенсивности ПОЛ в клетках, что в дальнейшем может способствовать повышению продуктивности растений в таких условиях.

Работа выполнена за счет гранта Российского научного фонда № 22-26-00168, https:/rscf.ru/project/22-26-00168

Анализ метаболома *Vicia cracca* L. и *Trifolium repens* L., произрастающих в Чернобыльской зоне отчуждения.

Битаришвили С.В., Волкова П.Ю., Шестерикова Е.М., Подлуцкий М.С.

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии», 249032, Киевское шоссе, 109 км, г. Обнинск, Калужская обл., Россия.
bitarishvili.s@gmail.com

Авария на Чернобыльской АЭС явилась беспрецедентной по уровню радиационного загрязнения и масштабу его распространения. Загрязнение долгоживущими радионуклидами пострадавших территорий до сих пор остается серьезной экологической проблемой. Природные популяции растений, обитающие на этих территориях, представляют уникальную возможность для изучения экологических последствий хронического облучения и механизмов адаптации к ионизирующему излучению.

Для выявления биохимических детерминант адаптации к долгосрочному хроническому облучению был выполнен метаболомный профайлинг дикорастущих травянистых растений из Чернобыльской зоны отчуждения.

Исследования проводили на хозяйственно ценных видах травянистых растений – горошке мышином (*Vicia cracca*) и клевере ползучем (*Trifolium repens*), принадлежащих к семейству Бобовые. Пробоотбор был проведен в июне 2021 года на территории Полесского государственного радиационно-экологического заповедника в Гомельской области Республики Беларусь, в 30-километровой зоне отчуждения. Растения отбирали в одно и тоже время с двух контрольных участков Ломыш и Бабчин с фоновым уровнем радиации и двух загрязненных – Масаны и Кулажин, характеризующимися высокими уровнями радиоактивного загрязнения (3-5 мкЗв/ч). На каждом участке был оценен ряд показателей: мощность амбиентной дозы, активность радионуклидов в почве, концентрации обменных форм широкого спектра тяжёлых металлов, фиксировались погодные условия, чтобы исключить влияние иных факторов, помимо радиационного. Сразу после отбора растения замораживали в жидком азоте и впоследствии лиофилизировали. Метаболомный анализ был проведен при помощи метода газовой хроматографии-масс-спектрометрии (ГХ-МС) на приборе Agilent 7890A с масс-спектрометрическим модулем Agilent 5975C. Экстрагировали метаболиты в холодном растворе вода:ацетонитрил:изопропанол (2:3:3), содержащим рибитол. Дериватизацию MSTFA проводили в течение 30 минут при 38 °C. Разделение осуществлялось на капилярной колонке Rxi-5SilMS, Restek. Обработка данных ГХ-МС анализа проведена с помощью программы AMDIS 32, первичная статистическая обработка – в программе Multiple Experiment Viewer. Значимые отличия в выборках оценивали, используя критерий Краскела-Уоллиса. Для выявление релевантных метаболических путей использовали базу данных Plant Metabolic Network.

В результате анализа были выявлены метаболиты, концентрации которых статистически значимо отличались у растений с контрольных и загрязненных участков. Предложены кандидатные биохимические пути, вовлеченные в ответные реакции дикорастущих растений на многолетнее хроническое облучение. Полученные результаты вносят вклад в понимание механизмов адаптации растений к длительным антропогенным воздействиям и обоснованию новых принципов экологического регулирования.

Исследование проведено при поддержке гранта Российского научного фонда № 20-74-10004 «Адаптивные реакции травянистых растений на ионизирующее излучение: в поиске кандидатных молекул устойчивости к абиотическим стрессорам»

Пластохинон и пероксид водорода в ретроградной сигнализации в фотосинтезирующих клетках высших растений

Борисова-Мубаракшина М.М., Ветошкина Д.В., Козулева М.А., Найдов И.А., Руденко Н.Н., Федорчук Т.П., Иванов Б.Н.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН Федерального исследовательского центра «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», ул. Институтская., д. 2, г. Пущино, Московская область, 142290, Россия.
mubarakshinamm@gmail.com

В настоящее время широко признана сигнальная роль активных форм кислорода, в частности пероксида водорода (H_2O_2), в ретроградной сигнализации. Известно, что H_2O_2 в хлоропластах образуется в строме в реакции диспропорционирования супероксидных анион-радикалов, образованных компонентами фотосинтетической электрон-транспортной цепи. Нами показано, что существует дополнительный, отличный от диспропорционирования, путь образования H_2O_2 в тилакоидной мембране, т.н. мембранный H_2O_2, за счет протекания реакции между супероксидным анион-радикалом и пластогидрохиноном. Установлено, что молекулы H_2O_2, образующиеся внутри хлоропласта, диффундируют за пределы хлоропласта в цитоплазму, что позволяет H_2O_2 выполнять сигнальную функцию в ретроградной сигнализации. Количество H_2O_2, вышедшего из хлоропластов, зависит от интенсивности света и времени освещения, а также от активности антиоксидантной системы хлоропластов. Учитывая полученные нами данные о том, что продукция H_2O_2 в хлоропластах высших растений при увеличении интенсивности света увеличивается за счет увеличения скорости образования мембранного H_2O_2, можно сделать вывод о существенном вкладе именно мембранного H_2O_2 в общем количестве H_2O_2, регистрируемого за пределами хлоропластов. Мы обнаружили, что диффузия H_2O_2 из хлоропластов осуществляется через аквапорины, расположенные во внутренней хлоропластной мембране; участие аквапоринов в транспорте H_2O_2 через оболочку хлоропластов позволяет рассматривать эти белки как важный элемент внутриклеточной сигнализации. Считается, что изменение окислительно-восстановительного состояния пула пластохинона (ПХ пул) хлоропластов посредством ретроградной сигнализации влияет на экспрессию ядерных генов белков внешнего пигмент-белкового антенного комплекса фотосистемы 2 (ФС 2), что приводит к изменению содержания этих белков и изменению размера антенны ФС 2. Молекулярный носитель сигнала о состоянии ПХ пула для такого изменения структурно-функциональной организации антенны ФС 2 долгое время оставался невыясненным. В нашей работе экспериментально доказано, что не окислительно-восстановительное состояние ПХ пула как таковое, а количество образованного в фотосинтезирующих клетках H_2O_2, предположительно мембранного H_2O_2, играет определяющую роль в регуляции размера антенного комплекса ФС 2.

Физиологические особенности прорастания пыльцы хвойных растений

***Брейгина М.А.*[*], *Ахиярова Г.Р.*[**], *Клименко Е.С.*[*], *Полевова С.В.*[*]**

[*] Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Ленинские горы, 1, стр. 12, Москва, Россия;
[**] Институт биологии Уфимского научного центра РАН, проспект Октября, 69, Уфа, Республика Башкортостан, Россия.
breygina@mail.bio.msu.ru

Голосеменные – удивительные представители флоры Земли. С одной стороны, это древние растения с примитивными особенностями анатомического строения; с другой стороны, они прекрасно приспособлены к среде обитания и доминируют во многих экосистемах благодаря своим внушительным размерам и долголетию. При этом особый интерес представляет их репродуктивная система, которая имеет прогрессивные черты, так как в этой группе впервые появился сильно редуцированный мужской гаметофит — пыльцевое зерно, а также способность образовывать семена. Кроме того, эта группа по-прежнему представляет большое разнообразие репродуктивных паттернов, стратегий и отношений. Однако ботанические и эволюционные аспекты изучаются давно и уже достаточно подробно описаны, мы же обсудим физиологические данные, накопленные в последние годы при изучении прорастания пыльцы хвойных растений в нашей лаборатории.

Одной из ключевых задач было изучение динамики физиологических показателей у пыльцы хвойного растения на ранних этапах и сравнение их с таковыми у сравнительно полно изученных цветковых растений. Мы выбрали 4 показателя, характеризующие физиологическое состояние пыльцы: мембранный потенциал, внутриклеточный pH, выход анионов и поглощение кислорода, - для наблюдения за динамикой активации у *Picea pungens*. На основании динамики pH при активации мы сделали предположение о важной роли H^+-АТФазы в контроле прорастания. Предположение подтвердилось в опытах с ингибитором АТФаз P-типа ортованадатом. В пыльцевых трубках ели был обнаружен ярко выраженный градиент pH с максимумом в апикальной зоне, имеющий важные отличия от классического градиента цветковых растений. Мы обнаружили, что за поддержание градиента в значительной степени отвечает протонная помпа. Иммунолокализация фермента в пыльцевых трубках показала, что распределение H^+-АТФазы соотносится с формой градиента pH: максимальное ее накопление наблюдается в апикальной зоне.

Также в сотрудничестве с ИБ УНЦ РАН было проведено исследование, посвященное эндогенным гормонам в пыльце ели в процессе прорастания. Методом иммуноферментного анализа мы показали, что при активации пыльцы ели значительно снижаются уровни АБК, зеатина и его рибозида. После инициации полярного роста уровни всех цитокининов резко возрастают; уровень АБК также повышается. Иммунолокализация с применением конфокальной микроскопии показала, что в покоящихся пыльцевых зернах АБК и зеатин локализованы равномерно по всей цитоплазме. Сигнал АБК выявляется в цитоплазме и ядрах; зеатин не обнаруживается в ядрах, а в антеридиальной клетке его уровень выше, чем в клетке трубки. В прорастающей пыльце оба гормона обнаруживаются преимущественно в пластидах. Аналогичная картина наблюдается и в растущих пыльцевых трубках. Полученные результаты иммунолокализации сравнивали с классическим модельным объектом в исследованиях репродукции – пыльцой табака.

У покрытосеменных одним из основных компонентов, определяющих жесткость клеточной стенки, являются пектины, которые, как было показано, входят в состав апикальной и дистальной частей стенки пыльцевой трубки. В этом отношении голосеменные также имеют существенные отличия, причем картина казалась весьма противоречивой. У сосны пектинов не нашли вообще, позднее у некоторых видов все же было обнаружено некоторое количество как этерифицированных, так и кислых пектинов, но их картина резко отличалась от типичной для пыльцевых трубок покрытосеменных растений. Мы провели собственное исследование динамики этерифицированных и кислых пектинов на пыльце ели колючей с использованием флуоресцентным антител (световая микроскопия) и антител, меченых золотом (ТЭМ).

Различия в динамике физиологических показателей и концентрации гормонов, форме градиента pH и локализации H^+-АТФазы, локализации АБК и цитокининов, паттерне отложения пектинов между видами подчеркивают ключевые особенности регуляции прорастания пыльцы хвойных растений.

Исследование было выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 21-74-10054) и Российского фонда фундаментальных исследований (19-04-00282)

Цитокинин и абсцизовая кислота разнонаправленно регулируют экспрессию генов синтеза и рецепции мелатонина у *Arabidopsis thaliana*

Бычков И.А., Кудрякова Н.В., Кузнецов В.В.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук. Ботаническая, 35. Москва. Россия.
Ivan.a.b@mail.ru

Мелатонин – мультифункциональная молекула, сочетающая сигнальные свойства регулятора интегральных физиологических процессов с ролью антистрессового агента Особый интерес представляет анализ экспрессии генов, участвующих во взаимодействии мелатонина и фитогормонов как потенциальных посредников в реализации регуляторных функций этого эффектора. Ранее мы показали, что у растений *Arabidopsis thaliana* мелатонин в условиях фотоокислительного стресса способствовал уменьшению экспрессии генов синтеза и трансдукции АБК и гена катаболизма цитокинина *CKX3,* активируемых стрессом, и индуцировал гены негативного ответа на ЦК *ARR4* и *ARR5*. Основное внимание в данном исследовании уделено анализу воздействия ЦК и АБК на изменение экспрессии генов синтеза и сигналинга мелатонина. В отсутствии стрессовых воздействий, ЦК практически не влиял на уровень транскриптов генов цепи трансдукции мелатонина *CAND2* и *GPA1* и генов синтеза мелатонина *SNAT* и *COMT.* Однако мы наблюдали повышение экспрессии гена синтеза *ASMT,* особенно у мутантов с инактивированными генами *CAND2* и *GPA1*. В условиях стресса экзогенный ЦК способствовал незначительному снижению экспрессии всех исследованных генов рецепции и синтеза мелатонина, за исключением *ASMT,* который так же или даже в большей степени (дикий тип) активировался цитокинином. При обработке АБК, напротив, уровень транскриптов *ASMT* резко снижался, как и гена *SNAT,* тогда как некоторое падение экспрессии генов *CAND2*, *GPA1* и *COMT* отмечалось лишь при стрессе. Таким образом, фитогормоны *транс*-зеатин и АБК способны регулировать активность генов синтеза и сигналинга мелатонина, действуя как антагонисты. При этом ключевая роль в межгормональных взаимодействиях, по-видимому, принадлежит гену синтеза мелатонина *ASMT*, который является общим целевым геном ответа на действие АБК и ЦК как при стрессах, так и в условиях гомеостаза.
Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 20-14-00065).

Роль пренилирования белков в развитии многоклеточного таллома растений *Marchantia polymorpha*.

***Валеева Л.Р.*[*], *Ибрагимова С.М.*[*], *Кулаженко М.С.*[*], *Йошитаке Й.*[**], *Кочи Т.*[**], *Мамаева А.С.*[***], *Шарипова М.Р.*[*]**

[*] Казанский федеральный университет, ул. Парижской коммуны, 9, Казань, Россия;
[**] Высшая школа биологических исследований, Киотский университет. Киото 606-8502, Япония;
[***] Институт Биоорганической химии РАН. ул. Миклухо-Маклая, 16/10, Москва, Россия.
lia2107@yandex.ru

Одним из наиболее важных типов посттрансляционной модификации белковых молекул является пренилирование – присоединение изопренолового остатка (фарнезила С15 или геранилгеранила С20). Пренилированные белки задействованы в большом разнообразии различных клеточных механизмов, в первую очередь связанных с плазматической и внутриклеточными мембранами, включая адгезию и полярный рост клеток. Большое разнообразие пренилированных белков идентифицировано у многоклеточных животных и растений, однако весь спектр их функций до сих пор остается неизвестным. Тем самым, определение роли пренилирования и участия пренилированных белков в регуляции роста и развития тканей является одним из направлений в исследовании многоклеточности. Использование растений, в частности, новых модельных организмов, таких как бриофиты, представляет большой интерес, поскольку в царстве растений переход к многоклеточности происходил независимо несколько раз.

Цель работы – изучение роли пренилтрансфераз белков в развитии *Marchantia polymorpha* и идентификация белков-кандидатов, участвующих в регуляции многоклеточного таллома растений.

Провели биоинформатический поиск генов пренилтрансфераз белков в геноме *M. polymorpha*, на основании гомологии с аминокислотными последовательностями пренилтраснфераз белков *Arabidopsis thaliana* и *Physcomitrella patens*. Было обнаружено 5 генов субъединиц пренилтрансфераз: ген общей альфа-субъединицы пренилтрансферазы PLP (Mapoly0093s0047), ген бета-субъединицы фарнезилтрансефразы ERA (Mapoly0123s0027), ген бета-субъединицы геранилгеранилтрансферазы I GGB (Mapoly0010s0084), альфа-субъединицы Rab-геранилгеранилтрансферазы Rab-GGTA (Mapoly0151s0003), ген бета-субъединицы Rab-геранилгеранилтрансферазы Rab-GGTB (Mapoly0074s0013). Нокаутирование генов проводили с помощью CRISPR/Cas9 технологии. В результате, были получены линии растений-нокаутов *M. polymorpha,* мутантные по гену α-субъединицы, общей для PFT и PGGT (Δ*plp*); гену β-субъединицы PFT (Δ*era1*); гену β-субъединицы PGGT (Δ*ggb*) и гену β-субъединицы Rab-PGGT (Δ*Rabggb*). Было обнаружено, что мутации в генах Δ*plp* и Δ*ggb M. polymorpha* приводят к неспособности образовывать нормальный таллом и формированию каллус-подобных тканей и развитию нехарактерных округлых клеток. Хотя у мутантов Δ*plp* и Δ*ggb* маршанции сохранялась многоклеточная структура, однако, скопления клеток мутантов легко разобщались на фрагменты, что также может быть обусловлено дефектами в межклеточных контактах и адгезивных свойствах клеток. Однако, растений, мутантные по гену *Δera,* имели фенотип растений дикого типа без явных визуальных отклонений в развитии. Мутация по гену β-субъединицы Rab-PGGT (Δ*Rabggb*) приводила к летальному фенотипу. Лишь в случае мутации в области интрона гена растения Δ*Rabggb* были жизнеспособны и развивались без явных отклонений. Компелементация полученных мутантов Δ*plp* и Δ*ggb* способствовала возвращению фенотипа дикого типа (дорсо-вентральный таллом), хотя и с некоторыми отклонениями в форме таллома. Это подтверждает необходимость пренилирования белков в формировании таллома маршанции. Провели протеомный анализ мутантных растений и растений дикого типа. Было показано, что мутантные растения в отличие от растений дикого типа экспрессируют ряд белков, задействованных в процессах фотосинтеза, биосинтезе белка и ответе на стресс. Однако, в отличие от растений дикого типа, у мутантных растений не обнаружены фасциклин-подобные белки, отвечающие за адгезию клеток, а также регуляцию роста и развития растения, и слабо представлены сингальные белки. Путем ОТ-ПЦР подтвердили, что гены белка, содержащего фитоцианиновый домен (ген Mapoly0037s0115), а также белка с лектиновым доменом LegB (ген Mapoly0001s0098), экспрессируются только в растениям-нокаутах, но не в растениях дикого типа.

Таким образом, нарушение в пренилировании пула белков геранилгеранилтрансферазой I оказывает влияние на развитие многоклеточного таллома растений *M. polymorpha*. Далее мы планируем обнаружение других генов-кандидатов, а также получение растений-нокаутов по генам-кандидатам. Тем самым, изучение роли пренилирования белков в регуляции многоклеточного плана строения позволит получить новые знания об эволюции многоклеточности.

Работа выполнена в рамках проекта, поддержанного Стипендией Президента РФ СП-3391.2021.4 в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030).

Наночастицы золота участвуют в формировании повышенной холодоустойчивости пшеницы

***Венжик Ю.В.*[*], *Дерябин А.Н.*[*], *Попов В.Н.*[*], *Дыкман Л.А.*[**], *Мошков И.Е*[*]**

[*] Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Ботаническая ул., 35, Москва, Россия;
[**] Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Саратовского научного центра РАН, Энтузиастов просп., 13, Саратов, Россия.
jul.venzhik@gmail.com

В период резких климатических перепадов на большей части территории Европы особое значение приобретает проблема поиска новых методов и подходов, расширяющих представления о феномене холодостойкости и механизмах ее формирования. В этом направлении могут быть использованы нанотехнологии, благодаря которым стало возможным искусственное получение наночастиц различной природы, размеров и свойств. Благодаря уникальным оптическим и физико-химическим особенностям наночастицы способны проникать в растительный организм, существенно изменяя его метаболизм. Это позволяет использовать наночастицы как модуляторы стрессоустойчивости растений, однако исследования такого рода немногочисленны. В связи с этим, целью нашей работы явилось изучение влияния наночастиц золота (ЗНЧ) на устойчивость пшеницы к низкой температуре и ряд показателей, важных для ее формирования – интенсивность роста, фотосинтеза и дыхания, ультраструктуру клеток мезофилла, содержание фотосинтетических пигментов и растворимых сахаров в листьях, а также состав жирных кислот в доле общих липидов листьев.

В качестве объекта исследования использовали проростки озимой пшеницы сорта Московская 39, выращенные в условиях контролируемой среды. Коллоидные растворы ЗНЧ средним диаметром 15 нм получали цитратным методом (Дыкман, Хлебцов, 2019). Семена пшеницы замачивали в растворах ЗНЧ в концентрациях 0, 5, 10, 20 и 50 мкг/мл на 24 ч, после чего выращивали 10 сут при температуре 22°С на дистиллированной воде. Устойчивость проростков к низкой температуре определяли методом прямого промораживания и по выходу электролитов из тканей листа. Рост оценивали по длине первого листа и накоплению биомассы. Изучение CO_2-газообмена проводили на установке открытого типа с инфракрасным газоанализатором URAS 2T (Германия). Фотосинтетические пигменты экстрагировали 80% ацетоном и определяли спектрофотометрически по Wellburn (1994). Содержание глюкозы определяли глюкозооксидазным методом, а содержание фруктозы – спектрофотометрически по цветной реакции кетозы с резорцином, с последующим пересчетом содержания сахарозы (Nacamura, 1967). Состав и содержание жирных кислот, а также анализ ультраструктуры листьев пшеницы проводили по общепринятым методикам как описано нами ранее (Попов и др., 2020; Попов, Астахова, 2021).

Проведенное исследование показало, что ЗНЧ в концентрации 20 мкг/мл оказывали максимально выраженный стимулирующий эффект на устойчивость пшеницы к низкой температуре и ростовые процессы. При этом, увеличение холодоустойчивости под влиянием ЗНЧ сопровождалось рядом адаптивных изменений. В частности, у проростков, выращенных из обработанных ЗНЧ семян, усиливалась интенсивность фотосинтеза, увеличивалось содержание хлорофиллов и доля ненасыщенных жирных кислот в общем составе липидов листьев. Ряд ультраструктурных изменений отмечен в хлоропластах мезофилла проростков. Так, у растений, выращенных из обработанных семян, увеличивались размеры хлоропластов, строма разбухала и уплотнялась, возрастало число гран в пластидах, причем увеличивалась доля крупных гран с числом тилакоидов больше 10, а доля более мелких гран, соответственно, уменьшалась. Содержание сахаров в листьях пшеницы достоверно не изменялось, однако отмечено значительное увеличение размеров крахмальных зерен в хлоропластах. Изменения в интенсивности дыхания и ультраструктуре митохондрий под влиянием ЗНЧ не выявлены.

Таким образом, в исследовании впервые установлено, что обработка семян ЗНЧ вызывает структурно-функциональную реорганизацию фотосинтетического аппарата у проростков пшеницы. Обработанные растения отличались от контрольных повышенной интенсивностью фотосинтеза, увеличенным содержанием хлорофиллов в листьях, измененной структурой хлоропластов и композицией жирных кислот в составе общих липидов листьев. Выявленные изменения способствовали формированию повышенной холодоустойчивости растений. Сделан вывод, что обработка растений наночастицами золота может рассматриваться как новый метод для изучения механизмов повышения стрессоустойчивости растений.

Выявление особенностей распределения цитокининов между побегом и корнем и роста дефицитного по АБК мутанта ячменя на фоне мягкого осмотического стресса

Веселов Д.С., Высоцкая Л.Б., Федяев В.В., Ахиярова Г.Р., Иванов И.И.

Уфимский Институт биологии УФИЦ РАН, пр. Октября, 69, Уфа, Россия.
veselov56@mail.ru

Влияние дефицита питательных веществ на содержание гормонов и рост корней изучены хорошо, в отличие от долговременного действия на растения сверхоптимальной концентрации минеральных питательных веществ.
Целью настоящего исследования было проверить гипотезу о том, что абсцизовая кислота (АБК) участвует в контроле роста корней и распределении цитокининов между корнями и побегами, выращенными при сверхоптимальной концентрации минеральных питательных веществ. Это было достигнуто путем сравнения роста и содержания цитокинина у растений ячменя с дефицитом АБК и их родительского сорта, подвергнутых воздействию высокой (300%) концентрации раствора Хогланда-Арнона (Х-А).
Эксперименты проводили на растениях ячменя Hordeum vulgare L. (АБК-дефицитного мутанта Az34 и его дикого типа cv. Steptoe).
Важность усиления транспорта цитокининов была продемонстрирована с помощью карбонилцианида-м-хлорфенилгидразона (КЦХГ), протонофора, который нарушает градиент протонов в мембранах, тем самым ингибируя вторичный активный трансмембранный транспорт
Концентрация цитокининов в корнях растений на 300% Х-А были выше, чем на 10% Х-А. Противоположная картина была обнаружена в побегах растений, где концентрация цитокининов была выше при более низкой концентрации питательных веществ. В отличие от Steptoe, у растений Az34 на 300% Х-А уровень гормона не увеличивался в корнях и не снижался в побегах. Обработка растений Steptoe протонофором карбонилцианид-m-хлорфенилгидразоном (КЦХГ) предотвращала накопление цитокинина в корнях растений, выращенных в 300 %-ном растворе Х-А. У растений Steptoe на 300%-ном Х-А наблюдалось снижение транспирации на 10%. Обнаружили снижение доставки цитокининов от корней к побегам растений Steptoe, выращенных на 300 % растворе Х-А по сравнению с 10 % раствором. У растений мутанта ячменя Az34 концентрация цитокининов в ксилемном соке и транспирация при различных уровнях питательных веществ не изменились, что отразилось в неизменной доставке цитокининов от корней к побегам. Концентрация АБК в корнях Steptoe была выше у растений, выращенных на 300 % растворе Х-А, по сравнению с 10 % раствором, в то время как у растений Az34, выращенных на любом уровне питательных веществ, не было обнаружено существенной разницы в содержании АБК в корнях. Иммуногистохимическое исследование срезов корней показало повышенную флуоресценцию антител к цитокининам в случае растений Steptoe, выращенных на 300% Х-А по сравнению с 10% Х-А, в то время как в случае Az34 не было обнаружено различий во флуоресценции корней между растениями, выросшими при разных уровнях минеральных питательных веществ. Иммуногистохимический метод показал более высокое содержание цитокининов в корнях растений Steptoe. Проведённые эксперименты показывают, что это может быть связано с ингибированием экспорта цитокининов из корней. Важно отметить, что ни накопление цитокининов в корнях, ни ингибирование их удлинения не обнаружено у мутантов ячменя с дефицитом АБК. Концентрация АБК была ниже в Az34, чем в растениях Stepoe и, в отличие от их родительского сорта, концентрация АБК не увеличивалась в корнях растений ячменя богатых питательными веществами. Эти результаты свидетельствуют о важности способности растений накапливать АБК для регуляции содержания цитокининов в корнях и ростовых реакций.
Таким образом, сравнение действия сверхоптимальной концентрации минеральных питательных веществ на мутанте ячменя с дефицитом АБК и его родительском сорте показало зависимость как роста корней, так и уровня цитокининов от способности растений продуцировать АБК. В растениях Steptoe, способных накапливать АБК, сверхоптимальная концентрация минеральных питательных веществ приводила к снижению экспорта цитокининов из корней в побеги, массовому накоплению цитокининов в корнях и их повышенному содержанию в растущих кончиках корней, что приводило к ингибированию удлинения корней. Все эти эффекты отсутствовали у растений ячменя с дефицитом АБК.

Долговременная и кратковременная адаптации фотосинтетического аппарата к освещенности: механизмы взаимосвязи

Ветошкина Д.В., Руденко Н.Н., Балашов Н.В., Найдов И.А., Надеева Е.М., Борисова-Мубаракшина М.М.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН обособленное подразделение ФИЦ Пущинский научный центр биологических исследований РАН, ул. Институтская, 2, Пущино, Россия.
vetoshkina_d@mail.ru

Уменьшение размера светособирающей антенны фотосистемы 2 (ФС2) при увеличении освещённости является одним из долгосрочных адаптационных механизмов фотосинтетических организмов, инициация которого необходима для уменьшения поглощаемой энергии квантов света и защиты фотосинтетического аппарата от фотодеструкции – повреждений, вызванных действием высокой освещенности. Ранее нами показано, что сигналом для запуска этого адаптационного механизма является пероксид водорода, увеличение образования которого происходит при повышении освещенности в клетках листьев, в том числе в хлоропластах при участии компонентов пула пластохинона. Несмотря на то, что традиционно процесс регуляции размера антенны ФС2 связывают с действием повышенной освещенности, изменение содержания пероксида водорода в листе, а значит и возникновение сигнала для регуляции размера антенны ФС2, может происходить при действии различных абиотических и биотических стрессовых факторов. В работе проведено исследование влияния факторов среды на изменение размера светособирающей антенны фотосистемы 2. Впервые показано, что изменение светособирающей антенны фотосистемы 2 происходит в условиях засухи и засоления почвы.

Важным представляется поиск основных компонентов, участвующих в различных механизмах регуляции поглощения квантов света и установление их механизма действия. В ряде работ предполагается участие фермента STN7 киназы и в кратковременной, и в долговременной адаптации фотосинтетического аппарата к условиям освещения. В представляемой работе проведено исследование взаимосвязи кратковременных (state transitions) и долговременных (изменение биосинтеза светособирающих белков фотосистемы 2) адаптационных процессов, а также проанализировано участие STN7 киназы и активных форм кислорода в этих процессах.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта Президента РФ для государственной поддержки молодых российских ученых - кандидатов наук №МК-4743.2022.1.4

Анализ двухфазности кислород-зависимого темнового окисления пула пластохинона в высших растениях

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

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино.
vilyadar@gmail.com

В исследовании фотосинтетической электрон-транспортной цепи растений одним из наиболее часто используемых методов является измерение флуоресценции хлорофилла *a* фотосистемы 2 и расчет из этих измерений параметров, характеризующих состояние фотосинтетического аппарата. Для достоверных флуориметрических измерений необходимо предварительное затенение растений, в процессе которого происходит полное окисление всех компонентов электрон-транспортной цепи, в том числе пула пластохинона. Редокс-состояние пула пластохинона оказывает существенное влияние как на точность измерений флуоресценции, так и на состояние фотосистемы 2 в целом. На сегодняшний день известно, что кинетика темнового окисления пула пластохинона имеет двухфазный характер и наблюдается только в аэробных условиях. При этом кислород-зависимое окисление пула пластохинона происходит не только в темноте, но и на свету за счет реакции Мелера и реакции восстановленного пластохинона, пластогидрохинона, с активными формами кислорода (АФК): синглетным кислородом, супероксидным анион-радикалом, пероксидом водорода. Таким образом, понимание вклада кислорода в окисление пула пластохинона в темноте необходимо для установления реакций пула пластохинона и на свету. Однако, несмотря на доказанную двухфазность кинетики окисления пула пластохинона в темноте в аэробных условиях, до сих пор неизвестно, какие именно реакции ответственны за каждую из кинетических фаз. Данная работа сосредоточена на исследовании природы двухфазности кинетики окисления пула пластохинона в темноте в высших растениях.

Эксперименты проводили на изолированных тилакоидах шпината обыкновенного и гороха посевного при pH 7,5. Для регистрации кинетики окисления пула пластохинона в темноте использовали JIP-тест, основанный на измерении флуоресценции хлорофилла *a* в секундном диапазоне. Суспензию тилакоидов освещали в течение некоторого времени (5 или 30 с) красным светом высокой интенсивности (600 мкмоль квантов/м^{2}с) для полного восстановления пула пластохинона и генерации АФК, после чего выдерживали в темноте 0,1-60 с и подавали измерительную вспышку света высокой интенсивности (3000 мкмоль квантов/м^{2}с). Редокс-состояние пула пластохинона в темноте оценивали по расчетным параметрам JIP-теста: Area (площадь над кривой флуоресценции) и Sm (площадь над кривой флуоресценции, нормализованная на вариабельную флуоресценцию). Затем строили зависимости этих параметров от времени выдерживания тилакоидов в темноте, и таким образом получали двухфазную кинетику окисления пула пластохинона. В качестве кинетических параметров каждой из фаз использовали $\tau_{1/2}$, т.н. время полуреакции.

Кинетика окисления пула пластохинона в темноте состоит из «быстрой» (до 1 с) и «медленной» (до нескольких минут) фаз. Мы выдвинули предположение, что «быстрой» фазе окисления соответствуют реакции пластогидрохинона с молекулами-окислителями, образующимися на свету и существующими очень короткий временной промежуток, а «медленной» – с молекулами-окислителями, чье время жизни превышает несколько секунд в условиях суспензии тилакоидов. В условиях более длительного предосвещения (30 с) время полуреакции обеих кинетических фаз уменьшалось по сравнению с условиями короткого освещения (5 с), что свидетельствует о большей скорости окисления пула пластохинона при длительном предосвещении. Этот эффект снимается действием каталазы – фермента, разлагающего пероксид водорода до кислорода и воды. При этом внесение экзогенного пероксида водорода снова приводит к увеличению скорости окисления пула пластохинона в темноте. На основании этих данных мы предположили, что основной АФК, участвующей в «медленной» фазе окисления пула пластохинона, является образованный на свету в результате реакции Мелера пероксид водорода. Однако предшественником пероксида водорода является супероксидный анион-радикал, который может превратиться в пероксид водорода двумя путями: за счет дисмутации супероксидных анион-радикалов или посредством реакции с каким-либо компонентом тилакоидных мембран. Мы предполагаем, что «быстрая» фаза кинетики окисления пула пластохинона соответствует реакции пластогидрохинона с супероксидным анион-радикалом, образованным на свету компонентами электрон-транспортной цепи, вследствие чего происходит образование пероксида водорода, способствующего окислению пула пластохинона во время «медленной» фазы.

Таким образом, кислород-зависимое темновое окисление пула пластохинона в высших растениях зависит от условий образования АФК, развивающихся в процессе освещения.

Данная работа поддержана грантом РНФ № 22-24-010-74.

Влияние биодоступного азота на развитие индуцированного старения листьев *Arabidopsis thaliana* L.

***Власова А.А.*[*, **], Гарник Е.Ю.*[*]**

[*] Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, г. Иркутск, Россия;
[**] Иркутский государственный университет, г. Иркутск, Россия.
anfi98@bk.ru

Старение однолетних растений – это последний этап их развития, который направлен на ремобилизацию питательных веществ в органы размножения и созревающие плоды. Позднее начало старения может увеличить накопление питательных веществ в листьях, и это впоследствии может способствовать улучшению урожайности зерновых культур, при условии, что позднее начало старения сопровождается активным переносом питательных веществ в зерна. На сроки наступления и скорость старения растений влияют нарушение распада хлорофиллов, нарушение гормональной регуляции, стрессовые условия, такие как засуха или повышенная температура, и др. Старение листьев сопровождается индукцией большого набора специфичных для старения генов, деградацией клеточных структур, усилением катаболических процессов и ремобилизацией питательных веществ. Существуют мутанты растений с разнообразными нарушениями старения. Одним из таких мутантов является двойной нокаут-мутант *Arabidopsis thaliana* по генам глутаматдегидрогеназы (ГДГ, КФ 1.4.1.2), линия *gdh1gdh2*. У этого мутанта отсутствует активность ГДГ. Этот фермент служит звеном, связывающим углеродный и азотный метаболизм. Подвергая мутант *gdh1gdh2* индуцированному старению (длительному выдерживанию растений в темноте), мы наблюдаем отсутствие пожелтения листьев (фенотип stay-green), что является одним из признаков нарушения старения. Поскольку ГДГ участвует в катаболических превращениях ряда аминокислот, мы предполагаем, что старение мутанта *gdh1gdh2* обусловлено именно дисфункцией ГДГ и соответствующими перестройками азотного обмена.

Целью работы было изучение влияния содержания солей азота в питательных средах на развитие индуцированного старения листьев растений арабидопсиса дикого типа и мутантной линии *gdh1gdh2*.

Растения двух линий арабидопсиса *Col-0* и *gdh1gdh2* выращивали на средах с повышенным, пониженным и нормальным содержанием NH_4NO_3. Содержание аммонийного и нитратного азота: контрольные условия -[NH_4^+] 10,8 мМ/л, [NO_3^-] 21,6 мМ/л; пониженное содержание азота - [NH_4^+] исключен, [NO_3^-] 9,8 мМ/л; повышенное содержание азота - [NH_4^+] 21,6 мМ/л, [NO_3^-] 31,4 мМ/л. После выращивания растений в течение 21 суток в режиме «16 часов свет + 8 часов темнота», освещённость 150 $\mu mol*m^{-2}*s^{-1}$, T 23 °C, чашки с растениями убирали в полную темноту. Оценивали физиологические признаки старения: содержание хлорофиллов a и b (спектрофотометрия после ацетоновой экстракции), растворимых белков (окрашивание по Брэдфорду и спектрофотометрия) и ионную проницаемость мембран (кондуктометрия) после 0, 4 и 7 суток экспозиции растений в темноте.

Мы обнаружили, что динамика снижения содержания хлорофиллов существенно зависела от среды выращивания растений как дикого типа, так и мутантной линии. Для растений, выращенных в контрольных условиях, снижение содержания хлорофиллов у мутантных растений замедлялось раньше, чем у растений дикого типа, что соответствует отсутствию визуального пожелтения листьев (фенотип stay-green). Для растений, выращенных на среде с пониженным содержанием азота, динамика снижения содержания хлорофиллов у мутантных растений приближалась к динамике, наблюдаемой у растений дикого типа. Для растений, выращенных на среде с повышенным содержанием азота, различия между растениями дикого типа и мутантной линии усугублялись за счет ускорения распада хлорофиллов в контрольных растениях и ранней остановки этого процесса (признак нарушения старения) у мутантов *gdh1gdh2*. Аналогичные закономерности наблюдали для динамики снижения содержания растворимых белков и динамики повышения ионной проницаемости мембран: у растений дикого типа все признаки, характеризующие старение листьев, усугублялись с повышением содержания биодоступного азота в среде выращивания, что свидетельствует об ускорении индуцированного старения в условиях высокого содержания солей азота. Для растений мутантной линии *gdh1gdh2* повышение содержания азота приводило к усилению признаков нарушения старения и к усилению различий с растениями дикого типа. Пониженные концентрации солей азота в среде приводили к сглаживанию отличий мутантных растений от растений дикого типа по динамике развития физиологических признаков старения.

Таким образом, развитие индуцированного темнотой старения растений арабидопсиса может зависеть от содержания биодоступного азота.

Исследование проведено при финансовой поддержке гранта Иркутского государственного университета для молодых ученых № 091-21-315 «Роль биодоступного азота в развитии индуцированного старения листьев Arabidopsis thaliana L.» В работе использовано оборудование ЦКП «Биоаналитика» СИФИБР СО РАН (г. Иркутск).

Молекулярные аспекты влияния лантаноидов на водный обмен проростков *Zea mays*.

Воробьев В.Н.[*,**]

[*] Казанский (Приволжский) университет, ул., Кремлевская, 18, Казань, Россия;
[**] Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, ул., Лобачевского, 2/31, Казань, Россия.
vorobyev@kibb.knc.ru

Обнаружены эффекты низких концентраций легких (лантан) и тяжелых (лютеций) нитратов лантаноидов (1 μmol) на водный обмен проростков кукурузы. Оценка параметров водного обмена проводилась с использованием портативной системы измерения газообмена растений, модель Li-COR-6800 (США). Влияние лантана приводило к снижению устьичной проводимости воды (g_w) в листьях семидневных проростков на 23% относительно контрольных, выращенных на среде с добавлением нитрата кальция, и повышении g_w на 29% при выращивании проростков на среде с лютецием. Различия сопровождались изменениями в уровне экспрессии аквапоринов локализованных на плазмалемме *Zm*PIP1 *Zm*PIP2. Проведенный анализ экспрессии аквапоринов группы PIP2 показал значительное снижение уровня экспрессии *Zm*PIP2;5 и некоторое увеличение экспрессии *Zm*PIP2;1 и *Zm*PIP2;3 в варианте с использованием лантана. Под влиянием лютеция уровень экспрессии данных аквапоринов был увеличен более чем в два раза по отношению к контрольным растениям. В условиях осмотического стресса, вызванного заменой растворов выращивания на 10% раствор ПЭГ 6000, устьичная проводимость контрольных образцов снизилась на 50%. В опытных вариантах снижение g_w было более значимо и составило для лантана 66%, а для лютеция 73%. При этом отмечается значительное, более чем два раза по сравнению с контрольными образцами, снижение уровней экспрессии *Zm*PIP2;3 и *Zm*PIP2;5. Проявившиеся различия во влиянии лантана и лютеция на устьичную проводимость листьев проростков кукурузы обусловлены различиями в уровне экспрессии как минимум двух аквапоринов *Zm*PIP2;3 и *Zm*PIP2;5. Однако, в условиях осмотического стресса лантаноиды способствуют более эффективной защите от потери воды.

Снижение водного потенциала апопласта подустьичной полости листа *Pisum sativum* L. и устьичной проводимости при засухе.

Воронин П.Ю.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Ботаническая ул., 35, Москва, Россия.
pavel@ippras.ru

Засуха является одним из наиболее важных абиотических стрессоров,влияющих на рост, развитие и продуктивность растений. Изменение углеводного метаболизма при засухе тесно связано с фотосинтезом и транспирацией и имеет большое значение для стабилизации водного баланса растений. В результате 3-суточной засухи после прекращения полива у 2-х недельных проростков гороха при обычной атмосферной концентрации CO_2 отмечали 2.5 увеличение содержания редуцирующих сахаров (глюкоза+фруктоза) и заметное увеличение пролина в листьях одновременно со значительным ингибированием фотосинтеза и транспирации. Такое кратное увеличение содержания редуцирующих сахаров в клетках приводит к образованию концентрационного градиента между внутриклеточным (симпласт) и внеклеточным (апопласт) компартментами. Накопление редуцирующих сахаров в клетке способствовало переносу этих низкомолекулярных осмолитов из фотосинтезирующих клеток в апопласт и сопровождалось значительным понижением водного потенциала этого внеклеточного компартмента. Однако в случае выращивания растений опытного варианта (3-х суточная засуха) при удвоенной концентрации атмосферного CO_2 увеличения содержания редуцирующих сахаров не отмечали и уровень транспирации понизился заметно меньше по сравнению с опытным вариантом, выращиваемым при нормальной атмосферной концентрации. Таким образом, дефицит водных паров в подустьичной полости в опытном варианте при удвоенной концентрации CO_2 был заметно меньше по сравнению с опытным вариантом при обычной концентрации CO_2. Следствием данного эффекта было сравнительно меньшее снижение устьичной проводимости и фотосинтеза опытного варианта, выращенного на фоне удвоенной концентрации CO_2. Полученные результаты представляют первое экспериментальное подтверждение высказанной ранее в литературе гипотезы о массовом переносе H_2O из газовой фазы подустьичной полости непосредственно внутрь замыкающих клеток устьиц как об основном исполнительнм механизме, регулирующем их тургор при изменении водного статуса листа.

Влияние элиситоров и антистрессантов на формирование защитных реакций в каллусных культурах винограда

Вялков В.В., Луцкий Е.О., Сундырева М. А.

ФГБНУ Северо-Кавказский Федеральный Научный Центр Садоводства, Виноградарства и Виноделия, г. Краснодар, Российская Федерация
taurim2012@yandex.ru

Характерной для растений винограда реакцией на стрессовые воздействия является выработка стильбенов – полифенолов, являющихся токсичными для патогенов. Однако данный механизм имеет существенные недостатки: в результате цепочки реакций, вызванных стрессовым воздействием, продуктами защитной реакции являются три основных группы стильбенов: ресвератрол, из которого синтезируются остальные две группы, виниферины – стильбены, проявляющие наибольшую токсичность для патогенов и пицеиды, которые не токсичны, но более стабильны и выполняют запасающую функцию. Неравномерность синтеза этих полифенолов у различных сортов винограда приводят к неодинаковой реакции на патогенную нагрузку и, как следствие, являются одной из причин различий в устойчивости. Ещё одной отличительной чертой виноградного растения является неравномерное накопление стильбенов в различных органах и тканях, следовательно, для исследования механизмов биосинтеза защитных соединений наиболее подходят культуры не дифференцированных клеток.

Исходя из этого, целью данного исследования являлось определение способа воздействия на каллусную культуру винограда, приводящего к изменению соотношения производимых стильбенов. Объектом данного исследования являлся каллус винограда сорта Красностоп Золотовский. Каллусная культура выращивалась на модифицированной питательной среде Мурасиге Скуга с изменённым содержанием макросолей по патенту № RU 2 636 030 C2. Для стимуляции роста каллусных культур, в питательной среде было увеличено содержание 6-БАП до 2 мг/л и добавлен ИМК в количестве 0,1 мг/л. В качестве стимуляторов фенольного метаболизма выступали элиситоры: метилжасмонат, салициловая кислота, пролин в качестве антистрессанта, а также метаболический предшественник стильбенов - кумаровая кислота. Исследовали как одиночное воздействие приведённых веществ, так и действие сочетаний элиситор-антистрессант. В качестве контроля выступала каллусная культура, выращенная на среде без модификаций. В каллусной культуре измеряли: общее содержание фенольных соединений, содержание флавоноидов, трёх основных групп стильбенов (ресвератрол, виниферин, пицеид), малонового диалдегида, активность полифенолоксидазы и бензидинзависимой пероксидазы.

Измерение общего содержания фенольных соединений показало наибольший результат в варианте с использованием метилжасмоната (0,581 мкг/мкл, по сравнению с 0,105 мкг/мкл контроля). Содержание флавоноидов так же было более высоким в этом варианте (24,2 мкг/мкл экстракта по сравнению с 19,5 мкг/мкл у контроля), однако стоит отметить, что другие варианты добавок привели к уменьшению содержания флавоноидов в каллусе, по сравнению с контролем. Наименьший результат продемонстрировал вариант с добавлением салициловой кислоты и пролина (6,3 мкг/мкл экстракта). Несмотря на то, что добавление в культуральную среду метилжасмоната привело к наибольшему возрастанию общего содержания стильбенов (823 мг/л экстракта, по сравнению с 148 мг/л экстракта контроля), содержание виниферина же было наибольшим в варианте с добавлением метилжасмоната и пролина (486 мг/л экстракта). Одновременно с этим стоит отметить, что содержание ресвератрола в этом варианте было наименьшим (11,5 мг/л по сравнению с 19 мг/л у контроля и 132 мг/л в варианте только с метилжасмонатом). По содержанию МДА вариант с добавлением метилжасмоната является лидирующим (0,08 мкМоль/г сырой массы), превышая контрольные значения в 2 раза. Активность ферментов демонстрирует заметно иную картину: активность полифенолоксидазы оказалась наибольшей в варианте с сочетанием салициловой кислоты и пролина (17,7 усл. ед./г сырой массы), тогда как вариант с добавлением метилжасмоната показал наименьший результат (11,8 усл. ед./г сырой массы). С другой стороны, содержание бензидинзависимой пероксидазы оказалось наибольшим именно у варианта с добавлением метилжасмоната (138,5 8 усл. ед./г сырой массы), превысив контрольные значения в 4 раза.

Полученные данные позволяют нам сделать предположение, что хотя метилжасмонат и приводит к наибольшей выработке клетками винограда виниферина, он не на столько эффективен в качестве стимулятора защитных реакций, так как приводит к активации всего пути биосинтеза в целом, увеличивая прирост как защитных соединений, так и не используемых непосредственно в защите растения от патогенов соединений. Эффективнее себя показало воздействие сочетания пролина и метилжасмоната, так как оно привело к возрастанию только содержания виниферина, при этом сохранив остальные показатели в относительно низких значениях.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Министерства образования и науки Краснодарского края в рамках научного проекта № 19-44-233006 р_мол_а.

Сравнительный анализ состава фенольных соединений в разных сортах капусты кейл (*Brassica Oleracea var. Acephala)*

Галиев И.В., Алмуграби Е., Мостякова А.А., Тимофеева О.А.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18.
defotan@gmail.com

В последние годы достигнуты значительные успехи в области диетологии и планировании рациона правильного питания человека. Все это благодаря исследованиям, которые доказывают прямую зависимость микрофлоры и здоровья человека с питанием. Традиционный рацион питания может быть изменен или дополнен натуральными, укрепляющими здоровье продуктами. Основное преимущество так называемых функциональных продуктов, заключается в том, что они содержат повышенное количество биоактивных соединений, в т.ч. различных вторичных метаболитов растений.

Растительные продукты с выявленными противораковыми и кардиозащитными свойствами включают разновидности *Brassica oleracea*, которые проявляют генотоксические свойства и обладают высокой антиоксидантной и антимикробной активностью. В последние годы возобновился интерес к использованию листовой капусты кейл в качестве профилактического продукта питания из-за относительно высокого содержания биоактивных фитохимических веществ, таких как глюкозинолаты, фенольные соединения, антоцианы, аминокислоты, витамины и минералы. Фенольные соединения в большинстве своем проявляют антиоксидантную активность и способствуют профилактике многих хронических заболеваний. Исследования последних лет показали, что производные некоторых фенольных соединений зачастую проявляют большую эффективность, чем специфичные лекарственные препараты.

Вместе с тем, в настоящее время имеется достаточно большой набор сортов капусты кейл, которые могут значительно различаться по количеству фитохимических веществ, что может сказываться на физиологических характеристиках и «полезности» данного растения. В связи с этим целью данной работы является изучение фенольного состава разных сортов капусты кейл.

В качестве объекта исследования использовали растения трех сортов капусты кейл (*«Nero Di Toscana»,* «*Dwarf Green Curled*» и «Кай и Герда»), выращенные в теплице в течение 18 недель. На первом этапе необходимо было подобрать оптимальные способы экстракции фенольных соединений. Наиболее эффективной оказалась трехкратная спиртовая экстракция при 70°С по 15 мин каждая.

Хроматографический анализ проводился на высокоэффективном жидкостном хроматографе с использованием в качестве подвижной фазы смесь ацетонитрила (раствор Б) и воды с добавлением 1% ледяной уксусной кислоты (раствор А). Разделение проводили в градиентном и изократическом режиме. Для идентификации фенольных соединений использовались соответствующие стандарты с определенной концентрацией. Результаты выдавались на компьютере в качестве пиков, по которым можно определить не только наличие разных метаболитов, но и их количество.

Проведенный эксперимент продемонстрировал значительно большее количество фенольных кислот, прежде всего таких, как галловая, синнаповая и коричная кислоты у сорта *«Nero Di Toscana»*. По сравнению с «*Dwarf Green Curled*» и «Кай и Герда», в которых общее содержание перечисленных кислот было больше в 1.44 и 1.25 раз соответственно. У растений сорта «Кай и Герда» было обнаружено большее количество кофейной кислоты. «*Dwarf Green Curled*» показала относительно средние результаты.

Исходя из результатов, именно сорт *«Nero Di Toscana»* представляется наиболее перспективным для дальнейших исследований и активного внедрения в практику растениеводства.

Роль альтернативной оксидазы митохондрий в адаптации растений к стрессу

Гармаш Е.В.

Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук ФГБУН ФИЦ «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук», Сыктывкар, Россия.
garmash@ib.komisc.ru

Обобщены результаты изучения энергетически малоэффективного альтернативного пути дыхания (АП), осуществляющего транспорт электронов через терминальную альтернативную оксидазу (АО) в растительных митохондриях. Выявлены механизмы регуляции вовлечения АП при адаптации к условиям среды. Показана важная роль АО как неотъемлемой части сбалансированной защитной системы клетки, участвующей в сигналлинге, поддержании окислительно-восстановительного баланса клетки, оптимизации фотосинтеза, регуляции биоэнергетики в норме и при стрессах. Предложена концепция АП как обязательного компонента при количественной оценке энергетической эффективности дыхания. Обосновано использование АО в качестве маркера стресс-толерантности, изменения метаболизма и энергетического состояния клеток при действии неблагоприятных факторов.
Работа частично поддержана грантом РНФ № 22-24-01082.

Альтернативная оксидаза митохондрий влияет на формирование метаболических путей адаптации растений *Arabidopsis thaliana* при стрессе

Гармаш Е.В., Дымова О.В., Силина Е.В., Белых Е.С., Велегжанинов И.О.

Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук ФГБУН ФИЦ «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук», Сыктывкар, Россия.
garmash@ib.komisc.ru

Альтернативная оксидаза митохондрий (АОХ) участвует в регуляции редокс-баланса, уровня АФК, окислении образующегося в хлоропластах восстановителя. В работе исследовано влияние уровня экспрессии *AOX1a* на изменение метаболических путей адаптации растений *Arabidopsis thaliana* к воздействию повышенной дозы УФ-Б радиации (0.6 кДж/м^2), освещенности (400 мкмоль ФАР/м^2 с) и острого гамма-облучения (200 Гр) . В экспериментах использовали 4-х недельные растения трех линий – дикого экотипа Col-0, линии XX-2 со сверхэкспрессией гена и антисенсовой линии AS-12. Сверхэкспрессия *AOX1a* способствовала защите от действия неблагоприятных факторов без существенных изменений в уровне транскрипции других генов компонентов нефосфорилирующих дыхательных путей (НФП). Подавление экспрессии *AOX1a* в антисенсовой линии вызывало компенсаторный эффект со стороны митохондриальных и систем клеточной антиоксидантной защиты. Индукция других форм АОХ1 полностью не компенсировала отсутствие функционально-компетентного белка АОХ1А в антисенсовой линии. Эффект наиболее четко обнаружен в антисенсовых растениях после действия гамма-облучения, где компенсаторные механизмы, включающие активацию экспрессии генов репарации ДНК, были недостаточны для поддержания фонового уровня эмбриональных летальных мутаций. В условиях повышенной освещенности уровень экспрессии *AOX1a* определял функционирование фотопротекторных систем хлоропласта. В листьях линии AS-12 ослабление процессов нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла коррелировало со снижением уровня деэпоксидации виолаксантина (DEPS), что было вызвано недостаточной активностью виолаксантиндеэпоксидазы из-за ограничения доступности аскорбата – кофактора фермента. Данные о характере экспрессии генов НФП в разных линиях и содержании в промоторах общих *цис*-регуляторных элементов указывают на их возможное взаимодействие на уровне транскрипционного ответа и зависимость от экспрессии *AOX1a*.

Полученные результаты свидетельствуют о важной роли АОХ в защите клетки от окислительного стресса, поддержании взаимодействий между митохондриями и хлоропластами, комплементарном характере функционирования нефосфорилирующих дыхательных путей.

Работа поддержана грантом РНФ № 22-24-01082.

Изменения дыхания у *gun*-мутантных проростков *Arabidopsis thaliana* в условиях заблокированного биогенеза хлоропластов

***Гарник Е.Ю.*[*], Шмаков В.Н.[*], Власова А.А.[*,**], Константинов Ю.М.*[*,**]**

[*] Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, г. Иркутск, Россия;
[**] Иркутский государственный университет, г. Иркутск, Россия.
elga74@yandex.ru

Обмен сигналами между клеточными компартментами координирует развитие и дифференцировку клеток, модулирует метаболические пути и запускает реакции клетки на условия окружающей среды. Хлоропластно-ядерные сигналы связывают экспрессию определенных ядерных генов, кодирующих связанные с фотосинтезом белки, с функциональной активностью хлоропластов. Некоторые мутанты растений, называемые *gun*-мутантами, выращенные в присутствии норфлуразона, линкомицина или других ингибиторов биогенеза хлоропластов, сохраняют высокий уровень экспрессии этих генов по сравнению с проростками дикого типа, у которых их экспрессия в тех же условиях падает до минимума. Таким образом, *gun*-фенотип – это молекулярный фенотип, при котором экспрессия ядерных генов, связанных с фотосинтезом, остается высокой при заблокированном биогенезе хлоропластов, например, при выращивании в присутствии линкомицина или норфлуразона. Механизмы формирования *gun*-фенотипа остаются неясными для большинства *gun*-мутантов и, в частности, для мутантов по ядерному гену *GUN1*, кодирующему одноименный белок пластидной локализации. *gun1*-фенотип является молекулярным и не имеет внешних проявлений при выращивании растений в физиологически оптимальных условиях. Описан очень небольшой набор физиолого-биохимических признаков, по которым *gun1*-мутанты могут отличаться от растений дикого типа: нарушение биосинтеза антоцианов на ранних стадиях развития проростков при проращивании на средах с высоким содержанием сахарозы; замедление развития корней при проращивании в присутствии линкомицина; признаки развития более глубокого стрессового состояния, чем у растений дикого типа, в условиях засоления, а также в присутствии норфлуразона и линкомицина. Наша работа посвящена исследованию особенностей дыхания мутантных проростков арабидопсиса линии нокаут-мутантных проростков арабидопсиса линии *gun1-101*, выращенных в присутствии норфлуразона и линкомицина, то есть в условиях ареста биогенеза хлоропластов.

Для работы использовали проростки арабидопсиса в возрасте 6 суток от окончания стратификации, выращенные стерильно в чашках Петри на плотных средах, содержащих половинный состав солей по Мурасиге-Скугу, 2% сахарозы (контрольные условия), а также 0,5 мМ линкомицина либо 5 мкМ норфлуразона. У проростков срезали корни, далее проводили предварительную инкубацию в течение 20 минут: в бидистиллированной воде; в 1мМ р-ре KCN (ингибирование цитохромного пути дыхания); в р-ре, содержавшем 1 мМ KCN и 10мМ салицилгидроксамовой кислоты (одновременное ингибирование цитохромного и альтернативного путей дыхания). Сразу после предварительной инкубации проростки переносили в кювету полярографа Oxyterm Electrode Unit (Hansatech Instruments) и измеряли поглощение кислорода за 5 минут, после чего рассчитывали среднюю скорость поглощения кислорода в 1 мл р-ра измерения на единицу сырого веса проростков. Кроме того, вычисляли долю цитохромного и альтернативного дыхания в процентах от общей скорости поглощения кислорода.

Мы не обнаружили значимых различий по общей скорости поглощения кислорода между проростками дикого типа и мутантами *gun1-101*, а также между проростками, выращенными в разных условиях. В то же время доля альтернативного дыхания для обоих генотипов была существенно выше у бесхлоропластных проростков. В этих же условиях обнаружены яркие различия между проростками двух генотипов: если у проростков дикого типа доля альтернативного дыхания после выращивания в присутствии норфлуразона и линкомицина составляла 41-43%, то у мутантных проростков *gun1-101* – 71% и 55% соответственно. Доля альтернативного дыхания при выращивании в контрольных условиях не различалась для проростков двух генотипов и составляла порядка 20%. Повышение уровня транскриптов гена мажорной альтернативной оксидазы *AOX1a* в условиях ареста биогенеза хлоропластов (ПЦР в реальном времени после обратной транскрипции) также было значимо выше у мутантных проростков *gun1-101*, чем у проростков дикого типа. Повышение копийности митохондриальных генов в тех же условиях как реакция митохондрий на отсутствие активных хлоропластов (ПЦР в реальном времени) было характерно для проростков обоих генотипов.

Полученные нами результаты описывают перестройку митохондриального дыхания как новый физиологический признак, отличающий мутантные проростки *gun1-101* от проростков дикого типа, и хорошо согласуются с описанными ранее признаками более высокой чувствительности *gun*-мутантов к условиям, вызывающим арест биогенеза хлоропластов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Иркутской области в рамках научного проекта № 20-44-380018. В работе использовано оборудование ЦКП «Биоаналитика» СИФИБР СО РАН (г. Иркутск).

Влияние солевого стресса на функционирование глиоксилатредуктазы в листьях кукурузы

Гатауллина М.О., Полшкова В.Р., Григорьева А. В., Епринцев А.Т.

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», Университетская пл. 1, г. Воронеж, Россия.
marina.gataullina@gmail.com

Глиоксилатредуктаза (ГР, К.Ф. 1.1.1.26) катализирует восстановление глиоксилата до гликолата с использованием НАДФН или НАДН в качестве кофермента. Фермент катализирует перенос гидрида от НАД(Ф)Н к глиоксилату, вызывая восстановление субстрата до гликолата и окисление кофактора до НАД(Ф). Глиоксилатредуктаза считается компонентом челнока глиоксилат-гликолата, который помогает избавляться от избыточных восстановительных эквивалентов в результате фотосинтеза. Кроме того, данный фермент является маркером адаптационного ответа организма, поэтому изменение его активности и механизмы ее регуляции представляют особый интерес. Целью данной работы являлось исследование влияния действия солевого стресса на активность глиоксилатредуктазы и экспрессию гена *gr1* (Gene ID: 100281069).

В качестве объекта использовались листья 10 дневной кукурузы сорта Воронежская-76, выращенные гидропонно. Индукция солевого стресса осуществлялась путём помещения растений с предварительно удаленной корневой системой в 0.15 М раствор NaCl на 24 часа. Контрольная группа растений инкубировалась в воде. Измерение активности фермента проводилось спектрофотометрически при 340 нм на спектрофотометре СФ-2000 (Ломо, Россия). Среда спектрофотометрирования включала 100 Мм TrisHCl, Ph 7.4, 0.4 мМ глиоксилат, 1 Мм НАДФН. Анализ относительного уровня транскриптов гена *gr1* осуществлялся по результатам ПЦР в реальном времени с использованием в качестве матрицы кДНК, полученной в ходе реакции обратной транскрипции (MMLV-RT kit, ЗАО «Евроген»). В качестве интеркалирующего красителя применялся Sybr Green I. Специфические праймеры к гену *gr1* были подобраны на основе нуклеотидной последовательности, представленной в международной базе данных NCBI.

Анализ динамики активности глиоксилатредуктазы показал, что инкубация проростков кукурузы в 150 мМ растворе хлорида натрия приводит к резкому увеличению ферментативной активности ГР. К 6 часам инкубации наблюдается максимальная активность, превышающая контрольные показатели почти в 9 раз. С 12 по 24 час воздействия солевого стресса активность фермента стабилизируется, хотя по-прежнему остается выше контрольных значений.

Уровень относительных транскриптов *gr1* находится в прямой зависимости от активности фермента, что говорит об увеличении экспрессии данного гена. Стоит отметить, что по-видимому именно изменение в работе кодирующего гена является основным механизмом регуляции работы глиоксилатредуктазы.

Таким образом, резкое повышение активности глиоксилатредуктазы является с одной стороны маркером солевого стресса, с другой имеет важное протекторное значение. Многократное увеличение скорости катализа позволяет эффективно избавляться от большого количества глиоксилата и сохранить компоненты клетки от окисления и нежелательных модификаций белков и ДНК.

Антиоксидантное и прооксидантное воздействие мелатонина на проростки люпина

Генерозова И.П., Буцанец П.А., Васильев С.В., Шугаев А.Г.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Ботаническая ул., 35, Москва, Россия.
igenerozova@mail.ru

Известно, что в условиях воздействий абиотических факторов на растения мелатонин может осуществлять защитную функцию, действуя как антиоксидант. Однако известны случаи, когда мелатонин проявляет себя в неблагоприятных для растения условиях как прооксидант. Причины такого разного воздействия гормона не ясны. Мы обнаружили прооксидантный и антиоксидантный эффект мелатонина при сопоставлении его действия на гипокотили и корни этиолированных проростков люпина узколистного Lupinus angustifolius L в условиях обезвоживания. Тестом реакции растений на неблагоприятное воздействие и обработку мелатонином служила активность дыхательной системы митохондрий, выделенных из гипокотилей и корней проростков. Концентрацию мелатонина (0.1 мкМ), которая влияла на работу электрон-транспортой системы митохондрий, выбрали на основе предварительных экспериментов. Опытные 4-суточные этиолированные проростки люпина, выращенные на 0.5 питательном растворе Хогланда, обрабатывали мелатонином (0.1 мкМ). Для этого проростки помещали на 1 ч в раствор Хогланда (0.5) с мелатонином, который барботировался воздухом, затем переносили на 1 сутки на сухую фильтровальную бумагу, после чего брали материал на исследование. Контролем служили необработанные 5-суточные этиолированные проростки, а также проростки, подвергнутые воздействию мелатонина или обезвоживания. Корни проростков оказались более чувствительными к неблагоприятному фактору, чем гипокотили – их водный дефицит под влиянием обезвоживания возрастал до 22%, тогда как у гипокотилей – до 6%. Содержание МДА в тканях проростков в неблагоприятных условиях значительно возрастало. Обезвоживание негативно отразилось на дыхательном метаболизме митохондрий гипокотилей и корней: снижалась скорость окисления субстратов, особенно малата, в состоянии 3, преимущественно за счет ингибирования активности цитохромного пути окисления, снижалась величина дыхательного контроля. При этом корни страдали больше, чем гипокотили: так, активность цитохромного пути при окислении малата снижалась у гипокотилей в 1.8 раза, а у корней – в 4-5 раз. Обработка мелатонином проростков предотвращала повышение содержание МДА в гипокотилях при обезвоживании. Сниженный уровень ПОЛ, маркером чего было пониженное содержание МДА, положительно отразился на дыхательной активности митохондрий: мелатонин предотвращал ингибирование окисления субстратов в состоянии 3, главным образом за счет поддержания окисления субстратов по цитохромному пути, в результате скорость окислении малата в состоянии 3 возросла по сравнению с контролем на 87%, сукцината – на 26%. На 33% возросла величина дыхательного контроля при окислении малата. Реакция корней на обработку проростков мелатонином была противоположной - мелатонин усугубил неблагоприятное влияние обезвоживания, вызвав ингибирование фосфорилирующей активности митохондрий, содержание МДА в тканях еще более возросло. Надо отметить, что различный эффект мелатонина на корни и гипокотили наблюдали в условиях, когда водный дефицит тканей гипокотиля и корня под влиянием мелатонина снизился. То есть, насыщение тканей водой – эффект, который нередко наблюдают при обработке мелатонином обезвоженных тканей – у корней не вызвал восстановления дыхательного метаболизма. Высокая чувствительность корней к содержанию воды в среде физиологически оправдана: как известно из литературных источников, дефицит воды в почве может стимулировать вытягивание корней, очевидно, в поисках источника воды. Действительно, наши данные по росту корня и гипокотиля показали, что в условиях обезвоживания рост корней и гипокотилей тормозился, но при этом корни росли активнее гипокотилей (и даже превышали рост корней у контрольных растений). Обработка проростков мелатонином тормозила рост корней обезвоженных проростков. Таким образом, все полученные результаты свидетельствуют том, что в одинаковых условиях обработки проростков обезвоживанием и мелатонином гормон проявлял в отношении разных органов – гипокотиля и корня - анти- и прооксидантную функцию.

Действие экзогенного донора оксида азота в разных концентрациях на структуру мембран митохондрий проростков гороха *Немчиновский 100* в норме

***Герасимов Н.Ю.*[*], *Неврова О.В.*[*], *Жигачева И.В.*[*], *Генерозова И.П.*[**], *Голощапов А.Н.*[*]**

[*] Институт Биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН
119334, Россия, Москва, ул. Косыгина, 4;
[**] Институт Физиологии растений им .К.А.Тимирязева РАН
127276, Россия, Москва, ул. Ботаническая, 35.
n.yu.gerasimov@gmail.com

В работе исследовано действие донора NO натрий μ2-дитиосульфато-тетранитрозилдиферрат тетрагидрата (ТНКЖ-тио) на структурное состояние мембран митохондрий проростков гороха *Немчиновский 100* в норме. В качестве структурной характеристики исследовалась температурная зависимость микровязкости, определяемой методом электронного парамагнитного резонанса спиновых зондов.

При обработке проростков гороха ТНКЖ-тио в концентрации 10^{-8} М микровязкость липидной области мембран митохондрий падала на 15%, прибелковой области - возрастала на 20% по сравнению с контролем. Разнонаправленные изменения микровязкости этих областей мембран характерны при нормальном функционировании органелл клеток. Кроме того, ТНКЖ-тио в концентрации 10^{-8} М сдвигал термоиндуцированные структурные переходы в сторону более низких температур как прибелковых, так и липидных областей относительно контроля.

Обработка проростков гороха ТНКЖ-тио в концентрации 10^{-4} М приводила к резкому уменьшению микровязкости липидной фазы до значений, при которых мембраны находятся в жидком, а не жидкокристаллическом состоянии. Вместе с тем, никакой зависимости микровязкости липидной фазы от температуры не наблюдалось. Такие изменения могут приводить к нарушению структуры мембран, что, вероятно, повлечет за собой дисфункцию митохондрий. Так, например, значительное разжижение мембран на фоне отсутствия зависимости от температуры характерно при развитии патологии у животных. В то же время, микровязкость прибелковых областей мембран митохондрий при обработке ТНКЖ-тио в концентрации 10^{-4} М возрастала на 10% относительно контроля. Вероятно, структура мембран изменялась, чтобы сохранить функционирование мембранных белков за счет деструкции липидной фазы.

Таким образом, ТНКЖ-тио в концентрации 10^{-8} М можно использовать для обработки проростков растений с целью повышения их адаптивности к влиянию экзогенных факторов. Напротив, применение большой дозы (10^{-4} М) может приводить к нежелательным последствиям.

Механизмы устойчивости растений льна к воздействию механических факторов

Горшкова Т.А., Петрова А.А., Захаров М.А., Чернова Т.Е.

Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, 420111, Лобачевского 2/31, Казань, Россия.
gorshkova@kibb.knc.ru

Различные виды растений используют разнообразные стратегии для формирования устойчивости к воздействию механических факторов. Для многих из них характерно развитие волокон – специализированных клеток, характеризующихся, в частности, экстремальной длиной и мощно развитой клеточной стенки. Формирование таких клеток, его различные стадии вписаны в становление общей биомеханической системы растения. На примере растений льна, являющихся удобной модельной системой, мы характеризовали механические свойства отдельных тканей и стебля в целом, а также парциальные площади различных составляющих стебля на разных этапах его развития. Анализировали различные генотипы, различающиеся по общей морфологии растений и содержанию волокон с третичной клеточной стенкой. При этом использовались методы атомно-силовой микроскопии, цифрового анализа изображений, иммуноцитохимии, трехточечного теста для определения модуля жесткости, а также оригинальные подходы, разработанные в лаборатории. Выявлены динамичные изменения вкладов различных тканей и различных механизмов достижения устойчивости в общие параметры биомеханической системы по мере её развития, что свидетельствует о существовании системы передачи механических сигналов и эффективности их работы в растительном организме. Полученные результаты будут обобщены в докладе. *Исследование поддержано грантом РНФ №19-04-00361П; часть работ проводилась при использовании средств по госзаданию КИББ КазНЦ РАН.*

Влияние ионизирующего излучения в малых дозах на пространственно-временные характеристики функциональных ответов, вызванных электрическими сигналами, у растений табака

Гринберг М.А., Немцова Ю.А., Агеева М.Н., Козлова Е.А., Брилкина А.А., Воденеев В.А.

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, пр. Гагарина, 23, Нижний Новгород, Россия.
mag1355@yandex.ru

В силу естественных и антропогенных причин растения в природе могут подвергаться действию повышенного радиационного фона. Ионизирующее излучение (ИИ) оказывает влияние на различные морфометрические показатели и активность физиологических процессов растительного организма. Для существования в переменчивых природных условиях особое значение имеет влияние на сигнальные системы и вызываемые ими функциональные ответы, ведущие к адаптации. Для координации формирования адаптации на уровне целого растения при действии быстронарастающих стрессоров значимую роль играют электрические сигналы (ЭС). Возникая в зоне повреждения или в зоне, наиболее восприимчивой к стрессору, ЭС распространяются по растению и вызывают разнообразные функциональные ответы, включая изменение активности физиологических процессов и профиля экспрессируемых генов. В наших предшествующих работах мы показали, что ИИ способно влиять на ЭС и формируемую ими адаптацию. Целью настоящей работы являлось изучение пространственно-временные характеристик и механизмов такого влияния.

В работе использовались растения табака *Nicotiana tabacum* L. сорта Samsun, трансформированные бинарной векторной системой pART27-ptGFP. В растениях экспрессируется флуоресцентный ратиометрический pH-чувствительный белок Pt-GFP. Для облучения использовался закрытый источник ^{90}Sr-^{90}Y, являющийся β-излучателем. Источник ИИ располагался над растениями на высоте 22 см. Активность источника составляла 0,1 МБк, мощность дозы – примерно 31,3 мкГр/час. Суммарная накопленная доза за весь период выращивания (6 недель) составляла около 31,55 мГр. Контрольные растения выращивались в аналогичных условиях в отсутствии источника ИИ. Морфометрические параметры оценивались по площади листьев, сырому и сухому весу. ЭС индуцировался постепенным нагревом кончика листа. Внеклеточная регистрация электрической активности осуществлялась посредством $Ag^+/AgCl$ макроэлектродов. Измерение мембранного потенциала производилось при помощи электрофизиологической установки SliceScope Pro 2000. Для регистрации параметров фотосинтеза и транспирации использовался инфракрасный газоанализатор GFS-3000 и PAM-флуориметр Dual-PAM-100. Измерения пространственно-временных характеристик ответа фотосинтеза на ЭС осуществлялось при помощи PAM-флуориметра Imaging-PAM MINI. Величину pH на уровне клеток регистрировали с использованием флуоресцентного конфокального лазерного сканирующего микроскопа LSM710. Измерения сдвигов pH, вызванных ЭС, на уровне целого растения проводились на установке флуоресцентного имиджинга DVS-03. Для ингибиторного анализа использовались ингибиторы H^+-АТФазы азид натрия (NaN_3) и ортованадат натрия (Na_3VO_4).

Хроническое облучение в малых дозах способствует увеличению сырого и сухого веса, а также площади листьев растений табака. У облучённых растений имеет место повышение активности фотосинтеза и уровня транспирации. Локальный нагрев кончика листа табака индуцирует возникновение и распространение ЭС. Прохождение ЭС вызывает переходное угнетение фотосинтеза, снижение уровня транспирации и сопровождается закислением цитоплазмы клеток. Обнаружено, что облучение практически не влияет на параметры электрических сигналов, однако значительно усиливает сопровождающие их изменения физиологических процессов и сдвиги pH. Показано, что под действием ИИ возрастает амплитуда, площадь охвата листа и скорость нарастания таких ответов. Различия между контрольными и облучёнными растениями возрастают по мере удаления от зоны стимуляции, что указывает на меньшее затухание реакции у растений, выросших под влиянием ИИ. Примечательно, что облучение существенно ухудшает корреляции, которые в контроле имеют место между амплитудами ЭС и вызываемых ими ответами фотосинтеза и сдвигами pH. В основе наблюдаемых эффектов может лежать изменение активности H^+-АТФазы. Ингибиторный анализ показал, что у облучённых растений возрастает доля метаболической компоненты мембранного потенциала, возникающей за счёт работы H^+-АТФазы, а также усиливается вызванный ингибированием H^+-АТФазы сдвиг pH.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (проект № 0729-2020-0061).

Роль анионных каналов в утечке электролитов при стрессе

Гриусевич П.В., Толкачева Ю.В., Новосельский И.Ю., Yu M., Демидчик В.В.

Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, Минск, Беларусь.
dzemidchyk@bsu.by

Выходящий поток или экссудация органических анионов необходим для распределения метаболитов в тканях и формирования внеклеточного пула органических анионов, участвующих в метаболических превращениях и физиологических процессах, а также для формирования синергического взаимодействия с микроорганизмами. На сегодняшний день в геномах высших растений выявлено 3 семейства генов анионных каналов, которые потенциально могут быть ответственны за пассивный выходящий поток органических анионов: SLAC(H)1 (SLow Anion Channel 1 Homologues), ALMT1 (ALuminum-activated Malate Transporter 1) и CLC (ChLoride Channel). В настоящей работе проведен детальный анализ роли анионных каналов семейства ALMT в феномене выхода анионов из корней высших растений. При помощи техники пэтч-кламп проведен анализ анионной проводимости плазматической мембраны растений дикого типа и нокаутных растений, лишенных функционального белка ALMT1. Показано, что мембрана клеток корня *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. дикого типа обладает высокой конститутивной проницаемостью к аскорбату, малату и цитрату. Токи данных анионов характеризовались низкой потенциал-зависимостью и быстрой кинетикой активации. Введение в среду антрацен-9-карбоновой кислоты (блокатор анионных каналов семейства ALMT) подавляло аскорбат-, малат- и цитрат-индуцируемые токи. Нокаутирование канала ALMT1 приводило к значительному снижению токов всех важнейших анионов. Таким образом, впервые получены доказательства того, что каналы ALMT1 обеспечивают выходящий поток органических анионов из клеток корня высших растений. Было также установлено, что конститутивная анионная проводимость плазматической мембраны не обладает проницаемостью к фумарат-, пропионат- и глюконат-анионам. Таким образом, в настоящей работе был проведен комплексный анализ проницаемости плазматической мембраны клеток корня к крупным органическим анионам и выявлен конкретный анионный канал, катализирующий пассивный выходящий поток анионов (ALMT1). Важно также отметить, что нами впервые продемонстрировано, что анионные каналы плазматической мембраны клеток корня высших растений проницаемы к аскорбату, являющемуся одним из доминирующих по содержанию анионов в тканях растений и важнейшему антиоксиданту.
Работа выполнена при поддержке БРФФИ (проект Б19М-108) и Министерства образования РБ (договор № 002/2022-БГУ).

Роль симбиотических ризобактерий в устойчивости растений томата (*Lycopersicon esculentum)* к засухе

Гурина А. К.*[*], *Лукашева Е. М.*[*], *Кузнецова А. В.*[*], *Шумилина Ю. С.*[*], *Алхаже К.*[*], *Билова Т. Е.*[**], *Черевацкая М. А.*[**], *Шапошников А. И.*[***], *Сырова Д. С.*[***], *Фролов А. А.*[*,*], *Белимов А. А.*[***]**

[*] Санкт-Петербургский государственный университет, Кафедра Биохимии, Средний пр., 41, Санкт-Петербург, Россия;
[**] Санкт-Петербургский государственный университет, Кафедра Физиологии и Биохимии растений, Университетская наб., 7/9, Санкт-Петербург, Россия;
[***] Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Пушкин 8, ш. Подбельского, д.3, Санкт-Петербург, Россия;
[****] Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Ботаническая ул., 35, Москва, Россия.
ak.gurina@gmail.com

Растения, среди которых множество значимых для человека культур, способны вступать в симбиотические отношения с почвенными микроорганизмами. Существует немало примеров, среди которых можно выделить взаимоотношения растений томата (*Lycopersicon esculentum*) и картофеля (*Solanum tuberosum*) с некоторыми штаммами ризобактерий. Так, например, было показано, что инокуляция растений томата штаммом *Pseudomonas brassicacearum* Am3, но не *P. brassicacearum* T8-1 способна нивелировать негативные эффекты засухи на биомассу растений. Наблюдаемый эффект может быть связан с активностью фермента 1-аминоциклопропан-1-карбоксилат (АЦК) дезаминазы в клетках ризосферных бактерий. Штамм бактерий *P. brassicacearum* T8-1 является мутантом штамма Am3 по АЦК-дезаминазе, с чем и связывают отсутствие протекторного эффекта на растения. Работа фермента и его эффект напрямую связаны с гормональным статусом растений, поскольку с его помощью АЦК (прямой предшественник в биосинтезе фитогормона этилена) расщепляется до аммиака и α-кетобутирата. В результате этого, поглощение бактериями АЦК стимулирует отток этого вещества из тканей растений, приводя к снижению уровня этилена и его ингибирующего воздействия. Однако, несмотря на общее понимание динамики содержания гормонов в тканях, физиологические эффекты, сопровождающие взаимодействие корней растений с симбионтами, остаются во многом неизвестными.

С целью выявления этих механизмов были проведены эксперименты с растениями томата. Были измерены содержание гормонов (абсцизовая кислота, салициловая кислота, ауксины) и физиологические параметры (относительное содержание воды в листьях, активность фотосистемы II, устьичная проводимость и содержание хлорофилла в тканях растений) в ответ на стресс в присутствии и отсутствии симбионтов. Также была охарактеризована динамика АФК, связанная с действием засухи. Для полномасштабного протеомного анализа с целью изучения вовлечения различных ферментативных систем и сигнальных каскадов в физиологический ответ растений на стресс, была выделена фракция тотального белка и осуществлен триптический их гидролиз. Полученные протеолитические пептиды были проанализированы с помощью нанопоточой обратнофазовой хромато-масс-спектрометрии совмещенной в режиме онлайн с квадруполь-времяпролетной масс-спектрометрией. На основе полученных данных были выявлены значимые различия в протеоме и физиологическом ответе контрольных и инокулированных растений томата на засуху. Показаны группы белков, которые непосредственно вовлечены в ответ растений на стресс.

Работа поддержана проектом Минобрнауки России (соглашение № 075-15-2922-320 от 20.04.2022).

Микроструктура меланизированных талломов лишайников *Lobaria pulmonaria*

Даминова А.Г.*[*,**], Рассабина А.Е.*[*], Рогов А.М.**[**], Бекетт Р.П.[***], Минибаева Ф.В.*[*]**

[*] КИББ-обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН, Лобачевского, 2/31, Казань, Россия;
[**] Казанский Федеральный Университет, Кремлевская, 18, Казань, Россия;
[***] School of Life Sciences, University of KwaZulu-Natal, Scottsville, South Africa.
daminova.ag@gmail.com

Лишайники - это симбиотические фотосинтезирующие организмы, таллом которых образован из микобионта (грибной партнер) и фотобионта (водоросль или цианобактерии). Лишайники относят к экстремофильным организмам ввиду их феноменальной устойчивости к действию неблагоприятных факторов окружающей среды. Среди разнообразных защитных механизмов особую роль играют меланины. Меланины - высокомолекулярные полимеры, содержащие фенольные и индольные группы. Меланизация талломов лишайников способствует предотвращению внутриклеточных повреждений при действии ультрафиолетового (УФ) облучения и света высокой интенсивности. Микроструктура меланинов довольно подробно изучена для ряда патогенных грибов и меланосом человека. Однако, информации о морфологии и локализации меланинов лишайников крайне мало, что обусловлено сложностью анатомического строения таллома лишайников, взаимодействием грибных и фотосинтезирующих симбионтов и разнообразием путей биосинтеза меланинов. Для визуализации меланинового слоя в талломе лишайников нами были проведены эксперименты по обработке талломов лишайника *L. pulmonaria* УФ излучением. С использованием световой микроскопии нами показано, что поперечные срезы меланизированных талломов характеризуются наличием особого слоя пигментированных клеток, проявляющих чувствительность к качественным реакциям на меланин. С помощью иммуногистохимической реакции была проанализирована локализация меланинов внутри лишайникового таллома *L. pulmonaria*. Для более детального определения локализации меланина в талломах лишайников поперечные срезы талломов *L. pulmonaria* были подготовлены для анализа с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). С помощью СЭМ в меланизированных талломах были визуализированы клетки с утолщенной клеточной стенкой, а также обнаружено отложение в полостях грибных гиф меланин-подобных гранул. Кроме того, проанализирован элементный состав клеток верхнего корового слоя немеланизированного и меланизированного талломов *L. pulmonaria*. По полученным данным было подтверждено, что меланин лишайника *L. pulmonaria* относится к типу эумеланин, что согласуется с данными, полученными методом иммуногистохимии. С помощью трансмиссионной электронной микроскопии были выявлены стадии меланизации клеток корового слоя таллома *L. pulmonaria*. Клетки гиф микобионта лишайника участвуют в меланизации таллома путем синтеза меланина и секреции меланиновых гранул. С помощью атомно-силовой микроскопии проанализирован трехмерный рельеф меланинсодержащего слоя кортекса талломов лишайников, а также получены данные по адгезионному картированию поверхности немеланизированных и меланизированных талломов. Результаты биохимического анализа свидетельствуют о высокой комплексообразующей активности меланинов, в частности, с полисахаридами. Таким образом, комплексный подход в изучении меланизированных талломов позволил приблизиться к расшифровке архитектуры меланинового слоя талломов лишайников, что важно для выявления механизмов высокой устойчивости лишайников к экстремальным условиям среды.

Работа поддержана грантом РНФ №21-74-00153 (трансмиссионная и сканирующая электронная микроскопия). В рамках выполнения ГЗ ФИЦ КазНЦ РАН проведены качественные и иммуногистохимические реакции на меланины.

Прайминг мелатонином снижает токсическое действие ионов кадмия на растения ячменя

***Данилова Е.Д.*[*], *Ефимова М.В.*[*], *Кузнецов Вл.В.*[*,**]**

[*] Национальный исследовательский Томский государственный университет, пр. Ленина, 36, Томск, Россия;
[**] Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Ботаническая ул., 35, Москва, Россия.
nusy.l.d@gmail.com

Побочным эффектом добычи полезных ископаемых, использования фосфатных удобрений, сжигания топлива и металлургических промышленных процессов является загрязнение почв ионами тяжелых металлов. Одним из наиболее токсичных металлов является кадмий, избыточная концентрация которого лимитирует рост и развитие растений, а также создает риски для здоровья человека. Экологичным и довольно эффективным способом повышения устойчивости растений к действию ионов тяжелых металлов является применение веществ фитогормональной природы, к которым относится мелатонин. В ряде исследований показано, что экзогенный мелатонин снижает токсическое действие кадмия и других тяжелых металлов за счет усиления роста корней, повышения антиоксидантной активности, увеличения интенсивности фотосинтеза и снижения накопления ионов металлов в разных частях растений. Однако в литературе практически не обсуждается способность мелатонина вызывать у растений состояние прайминга – процесса приобретения организмом способности повышать стресс-толерантность в ответ на действие того или иного повреждающего фактора в будущем.

Исследования проводили на растениях ячменя (*Hordeum vulgare*) в условиях, максимально приближенных к условиям произрастания растений в агроценозах и на загрязненных тяжелыми металлами природных территориях. Растения выращивали в грунте с добавлением перлита в течение 5 суток при температуре 20±2°C в фитотроне с 16-ти часовым фотопериодом. Далее в течение 7 суток растения адаптировали к условиям жидкой питательной среды по Blamey. Половину растений после адаптации подвергали суточной прикорневой обработке мелатонином. Затем все растения разделяли на четыре варианта: (1) контроль; (2) кратковременное воздействие мелатонином (10 мкМ); (3) хлорид кадмия (2 мкМ); (4) прайминг мелатонином (10 мкМ) с последующим действием хлорида кадмия (2 мкМ). Через шесть суток оценивали ростовые показатели (аккумуляцию биомассы, длину стебля и корня, суммарную площадь листовой поверхности), содержание фотосинтетических пигментов, параметры фотохимической активности фотосистемы II (ФС II) и фиксировали растительный материал для определения величины перекисного окисления липидов (ПОЛ).

В оптимальных условиях выращивания мелатонин не оказывал достоверного влияния на рост ячменя. Добавление в раствор 2 мкМ $CdCl_2$ вызывало подавление роста стебля на 11%, корня на 24% и уменьшение суммарной площади листовой поверхности на 12%. Мелатонин частично восстанавливал длину стебля и корня на фоне кадмиевого стресса.

Содержание фотосинтетических пигментов напрямую влияет на фотосинтетическую активность ассимиляционного аппарата и продуктивность растений. В ответ на действие мелатонина содержание пигментов увеличивалось на 14-26%, хлорид кадмия в среде снижал количество хлорофилла *a*, хлорофилла *b* и каротиноидов на 31, 18 и 24% соответственно. Прайминг мелатонином был эффективным для снижения токсического действия кадмия на содержание хлорофиллов: количество хлорофилла *a* возрастало на 18% относительно варианта с хлоридом кадмия, а количество хлорофилла *b* было практически равно контрольному значению.

Для выявления действия кадмия и экзогенного мелатонина на фотосинтетическую функцию листьев ячменя с помощью PAM флуориметра (MINI-PAM-II, Heinz-Walz, Germany) оценивали значение максимальной квантовой эффективности (F_v/F_m), которое отражает потенциальный квантовый выход ФС II и является чувствительным индикатором функционального состояния фотосинтетической системы. Полученные данные свидетельствуют о том, что F_v/F_m листьев контрольных растений соответствовала величинам данного показателя, характерным для растений, не подвергнутым стрессорным воздействиям и составляла 0.840. Кадмиевый стресс несколько снижал максимальный квантовый выход флуоресценции ФС II (F_v/F_m) (до 0.778), тогда как прайминг мелатонином частично восстанавливал значения F_v/F_m (до 0.805).

Величину ПОЛ, свидетельствующую о степени окислительного стресса, оценивали по содержанию продуктов, активных в реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-АП) при нагревании. В ответ на действие мелатонина достоверного роста или снижения уровня ТБК-АП не отмечено. Добавление 2 мкМ $CdCl_2$ в питательный раствор повышало содержание ТБК-АП на 49% в листьях, 32% в стеблях и корнях, что свидетельствует о развитии в растениях ячменя окислительного стресса. Прайминг мелатонином с последующим действием кадмия частично снижал ПОЛ во всех частях растений.

Таким образом, нами впервые получены данные о способности мелатонина вызывать состояние прайминга на фоне действия ионов кадмия. Защитный эффект мелатонина проявлялся в поддержании роста ячменя и содержания основных фотосинтетических пигментов, а также снижении величины ПОЛ.

Исследование выполнено в рамках реализации Программы развития Томского государственного университета (Приоритет 2030, №НУ 2.1.22 ЛМУ).

Роль жасмонатов в устойчивости пшеницы к некротрофным патогенам

***Дегтярёв Е.А.*[*, **], *Пиголев А.В.*[*], *Мирошниченко Д.Н.*[***], *Долгов С.В.*[***], *Савченко Т.В.*[*]**

[*] ФИЦ ПНЦБИ, Институт фундаментальных проблем биологии, ул. Институтская, 2, Пущино, Россия;
[**] Пущинский государственный естественно-научный институт, Проспект Науки 3, Пущино, Россия;
[***] Филиал Института Биоорганичекской химии РАН им. акад. М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова, Проспект Науки 3, Пущино, Россия.
evkras99@yandex.ru

Грибные заболевания пшеницы приводят к снижению урожайности на 15-20%, а в годы эпифитотий - до 50%. В связи с этим остро стоит проблема разработки новых, эффективных и безопасных средств защиты растений. Жасмонаты — это гормоны растений, производные жирных кислот, участвующих в регуляции роста, развития растений, а также реакций на стрессовые факторы. На модельном растении *Arabidopsis thaliana* было показано, что они играют важную роль в устойчивости растений к некротрофным фитопатогенам. Мы исследовали устойчивость к некротрофному патогену *Botrytis cinerea* трансгенных линий яровой мягкой пшеницы сорта Саратовская 60 (*Triticum aestivum* L. 2n=6x=42, геном ABD) с повышенным (Тр-3) и сниженным (Тр-20) базовым уровнем жасмоновой кислоты в тканях по сравнению с нетрансгенными растениями Сар-60, полученных путем сверхэкспрессии гена 12-оксофитодиеноатредуктазы из *Arabidopsis thaliana* (*AtOPR3*). Для проверки устойчивости растений к патогену был разработан простой протокол заражения срезанных листьев пшеницы, позволяющий количественно оценить степень поражения патогеном. Было обнаружено, что характер повреждения листьев пшеницы *Botrytis cinerea* отличается от поражения листьев арабидопсиса при заражении этим изолятом. У пшеницы зона поражения состоит из двух участков — некротического (тёмно- и светло-коричневого) и хлоротического (жёлтого), в то время как у арабидопсиса при инфицировании данным изолятом наблюдается лишь некротическое повреждение. Ткани некротической зоны окрашивались трипановым синим, в то время как ткани хлоротического участка оставались неокрашенными. У Тр-3 общая зона повреждений была меньше, хотя некротический участок – больше, чем у Сар-60 и Тр-20. Отличительной особенностью зараженных листьев Тр-3, по сравнению с Сар-60 и Тр-20 является уменьшение площади хлоротического участка, а также способность сохранять высокие уровни фотосинтетической активности в тканях, окружающих некротическую зону. Степень развития конидиофоров гриба также зависела от содержания жасмоновой кислоты в тканях растений: их количество было минимальным у Тр-3, а максимальным у Тр-20. К тому же на Тр-3 наблюдались только конидиеносцы без конидий, а на Тр-20 все конидиеносцы были с конидиями. Неожиданно, экзогенная обработка 500 мкМ водного раствора метилжасмоната способствовала прогрессированию заболевания и повышала восприимчивость *к B. cineria*. Полученные данные показывают, что изменение содержания жасмоновой кислоты в пшенице приводит к эффектам, которые отличаются от таковых на арабидопсисе. Дальнейшие исследования защитных эффектов жасмоновой кислоты от биотических стрессов в пшенице позволят разработать регламенты применения иммуномодуляторов на основе этого гормона в сельскохозяйственной практике.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РНФ № 22-16-0047.

Современные методы геномного редактирования и их использование для изучения механизмов адаптации и повышения стресс толерантности растений

Дейнеко Е.В.[*,**]

[*] Национальный исследовательский Томский государственный университет, пр. Ленина, 36, Томск, Россия;
[**] ФГБНУ «Федеральный научный центр институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия.
deineko@bionet.nsc.ru

Проведение работ по созданию важных сельскохозяйственных форм растений, устойчивых к неблагоприятным факторам среды, всегда являлось неотъемлемой частью любой селекционно-генетической программы по созданию новых сортов у различных видов растений. Секвенирование геномов культурных растений в течение последних двух-трех десятилетий, а также идентификация и описание первичной структуры генов, контролирующих хозяйственно ценные признаки, открыло перед исследователями новые возможности использования сайт-направленного мутагенеза с применением современных методов геномного редактирования. С применением метода CRISPR/Cas9 стало возможным не только целенаправленно модифицировать различные гены, определяющие хозяйственно-ценные признаки у растений, но и использовать этот подход в качестве инструмента для выявления вклада того или иного гена в проявление сложных признаков, среди которых в первую очередь следует назвать хозяйственно-ценные признаки растений, в том числе и устойчивость к стрессовым факторам.
Проводится цикл работ, направленных на изменение функционирования генов, задействованных в передаче внешних сигналов и обеспечении ответных реакций растения на эти воздействия. Именно такие реакции лежат в основе реализации механизмов стресс-толерантности растений, которые обеспечивают им наибольшую адаптивность к изменяющимся условиям окружающей среды. В качестве модели для изучения стресс-толерантности с применением методов геномного CRISPR/Cas9 редактирования использован *Arabidopsis thaliana*, у которого адаптация методов доставки генно-инженерного инструментария для проведения геномного редактирования в виде погружения цветочных побегов (floral dip), позволяет получать до 30% событий редактирования целевых генов.
С применением современных баз данных о нуклеотидном составе различных видов растений, задействованных в проявлении ответных реакций растений на различные стрессовые воздействия, проведен поиск генов-кандидатов, участвующих в метаболизме двух гормонов (цитокининов и абсцизовой кислоты), играющих ключевую роль при выживании растений при стрессе, приводящем у растений к развитию водного дефицита. Проведен дизайн и генно-инженерное конструирование инструментария для геномного редактирования, позволяющего проводить нокаутирование соответствующих генов-мишеней, проведена оценка его эффективности, в частности, проверка эффективности (функциональности) последовательностей (гайдов) в составе направляющей РНК, гомологичных последовательностям-мишеням, с применением системы транзиентной экспрессии на каллусных культурах и листовых эксплантах табака *Nicotiana tabacum*. Дальнейшие работы будут направлены на перенос созданного инструментария в геном *A.thaliana* с последующим отбором и верификацией событий нокаутирования целевых генов-мишеней. Основываясь на достаточно высокой степени гомологии ключевых генов, участвующих в обеспечении устойчивости растений к стрессовым факторам, полученные на модельном растении данные о механизмах стресс-толерантности могут послужить основой для дальнейшего развития работ в этом направлении с привлечением хозяйственно-ценных видов растений.
Исследование выполнено в рамках реализации Программы развития Томского государственного университета (Приоритет 2030, №НУ 2.1.22 ЛМУ).

Транс-факторы GLK1 и/или GLK2 необходимы для активации цитокинином экспрессии ядерного гена _SCA3,_ кодирующего пластидную РНК-полимеразу RPOTp в ходе деэтиоляции _Arabidopsis thaliana_

***Дорошенко А.С.*[*], Малюкова А. М.*[*,**], Данилова М.Н.*[*], Макеева А.А*[**], Кузнецов В.В.*[*]**

[*] Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия;
[**] Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия.
vkusnetsov2001@mail.ru

Процесс деэтиоляции, в ходе которого этиолированные проростки переходят с гетеротрофного на автотрофный тип питания, регулируется двумя главными факторами: светом и фитогормонами. Несмотря на то, что ведущую роль в этом процессе играет свет, его эффект в значительной степени зависит от гормональных факторов, прежде всего цитокининов (ЦК). В настоящее время показано многогранное влияние цитокининов на биогенез хлоропластов, однако, хотя механизм цитокининового сигналинга довольно хорошо изучен, остается не ясным, как гормональный сигнал поступает в хлоропласты и регулирует экспрессию пластидного генома. По нашему мнению, в данном случае преобладает антероградная регуляция, то есть цитокинин регулирует активность ядерных генов хлоропластных белков, которые участвуют в контроле экспрессии пластидного генома. Среди таких белков наибольший интерес представляют компоненты аппарата транскрипции пластид, которые включают две РНК-полимеразы ядерного кодирования (RPOTp и RPOTmp), шесть сигма-факторов (SIG1-SIG6), 12 белков, ассоциированных с пластидной РНК-полимеразой бактериального типа (PAP1-PAP12) и ряд других. По нашим данным многие компоненты аппарата пластидной транскрипции ядерного кодирования регулируются цитокининами, и такая регуляция может осуществляться с участием цитокинин-зависимых *транс*-факторов. В связи с этим особый интерес в регуляции биогенеза хлоропластов цитокинином представляет выяснение роли двух цитокинин-и свет-зависимых *транс*-факторов GLK1 и GLK2 (Golden two-LiKe).

Работа выполнена на растениях дикого типа *Arabidiopsis thaliana* и мутантах по генам *транс*-факторов *glk1glk2* (N9807, NASC, Великобритания). Растения дикого типа и нокаут-мутанта выращивали на питательной среде Мурасиге-Скуга, содержавшей ½ питательных элементов, без сахарозы и цитокинина или с добавлением *транс*-зеатина (1 мкМ) в течение 4-х дней в условиях темноты. Далее, четырехдневные этиолированные проростки переносили на белый свет (120 μmol s^{-1} m^{-2}) и фиксировали в жидком азоте через 6 и 16 часов. Относительный уровень транскриптов определяли методом ПЦР в режиме реального времени после обратной транскрипции с использованием амплификатора LigthCyclerR96 (“Roche”, Швейцария).

Прежде всего, было показано, что мутант *glk1glk2* чувствителен к цитокинину. Это подтверждается тем, что цитокинин (1 мкМ) подавлял рост гипокотиля у этиолированных проростков *glk1glk2* и, кроме того, ген-маркер действия цитокинина *ARR5* в равной степени активировался цитокинином как у растений дикого типа, так и у мутанта. Было также установлено, что ЦК в условиях наших экспериментов увеличивал содержание транскриптов генов *GLK1*(AT2G20570) и *GLK2* (AT5G44190) как в темноте, так и через 6 ч (*GLK2*) или 16 ч (*GLK1*) пребывания на свету. Это позволяло предполагать, что *транс*-факторы GLK1 и GLK2 могут участвовать в цитокинин-зависимой регуляции экспрессии генов в ходе зеленения проростков *A. thaliana*.

Было важно выяснить, участвуют ли факторы транскрипции GLK1 и/или GLK2 в цитокинин-зависимой активации экспрессии ядерного гена *SCA3*, кодирующего пластидную РНК-полимеразу RPOTp, которая транскрибирует главным образом пластидные гены “домашнего хозяйства” и играет ключевую роль при деэтиоляции растений. Полученные результаты показали, что ген *SCA3*активируется цитокинином у растений дикого типа, как в темноте, так и на свету, однако у мутанта *glk1glk2* регуляция экспрессии этого гена цитокинином отсутствует, что говорит о возможном участии *транс*-факторов GLK1 и/или GLK2 в гормональной регуляции экспрессии гена *SCA3*. Это предположение подтверждается так же отсутствием активации цитокинином содержания транскриптов двух RPOTp-зависимых пластидных генов *accD* и *clpP* у мутанта *glk1glk2*.

Таким образом, нами впервые показано участие *транс*-факторов GLK1 и/или GLK2 в реализации позитивного влияния цитокинина на формирование хлоропласта в период деэтиоляции путем регуляции активности гена пластидной РНК-полимеразы ядерного кодирования.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант 20-04-00294).

Оценка видеоспектральным методом реакции растений на стрессовые условия, вызванные избытком тяжелых металлов в среде

***Дроздова И.В.*[*], *Григорьева О.В.*[**], *Груздев В.Н.*[***], Золотухина А.В.[****], *Шилин Б.В.*[***]**

[*] Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, 197376, ул. проф. Попова, 2, Санкт-Петербург, Россия;
[**] Военно-космическая академия им. А.Ф. Можайского, 197198, Ждановская ул., 13, Санкт-Петербург, Россия;
[***] Научно-исследовательский центр экологической безопасности РАН, 197110, Корпусная ул., 18, Санкт-Петербург, Россия;
[****] Всероссийский научно-исследовательский геологический институт им. А.П. Карпинского, 199106, Средний пр., 74, Санкт-Петербург, Россия.
IDrozdova@binran.ru

Изучение фундаментальных закономерностей варьирования спектральных характеристик растений путем регистрации изображений в различных областях спектра позволяет оценить такие параметры растений как водный статус, физиологическое состояние, показатели роста и выявить особенности их ответных реакций на действие стрессовых факторов. Известно, что гиперспектральный имиджинг с использованием спектрометров для лабораторных исследований является одним из методов регистрации изображений, используемых при фенотипировании растений. В серии экспериментов изучали изменения спектральных отражательных характеристик растений при однократном внесении в питательную среду тяжелых металлов. Исследования проводили на сеянцах травянистых (*Fagopyrum esculentum*, *Phaseolus vulgaris*, *Helianthus annuus*, *Sinapis alba*) и древесных растений (*Acer platanoides*, *Quercus robur*), выращенных в песчаной культуре с 16 часовым световым периодом при освещении от люминесцентных ламп OSRAM L36W/77 и с поливом питательным раствором Арнона (½ нормы). В опытных вариантах к нему добавляли водные растворы сернокислых солей Cu, Ni и Zn в концентрации 3–9 предельно допустимых концентраций (ГН 2.1.7.2041–06). В лабораторных условиях, где должна быть реализована тестовая строго контролируемая обстановка на значительном количестве сравнительно малоразмерных объектов, оптимально применение спектрорадиометров с узким полем зрения и высоким спектральным разрешением. В связи с этим для исследования были использован спектрорадиометр Spectral Evolution PSR-3500, имеющий поле зрения входного объектива 4° и спектральный диапазон 350–2500 нм. Измерения спектров отражения листьев проводились непосредственно на растении в режиме реального времени. Спектральные аномалии были зафиксированы уже на вторые–третьи сутки после внесения поллютантов и сохранялись для разных видов растений от 10 дней до одного месяца. Показана видовая специфичность коэффициентов спектральной яркости (КСЯ), зависящая от типа листовой поверхности, структуры мезофилла, специфики пигментного комплекса и содержания воды в листе. Установлены изменения КСЯ растений при однократном внесении повышенных концентраций тяжелых металлов в питательную среду. Наиболее четкие спектральные аномалии у опытных растений по сравнению с контрольными проявляются в ближнем инфракрасном диапазоне 750–900 нм. Выделенные аномалии наблюдаются также и в диапазоне 1500–1800 нм, но различия у них существенно меньше. На начальных этапах эксперимента для большинства изученных видов регистрируется положительная спектральная аномалия, отражающая стимулирующее действие использованных концентраций тяжелых металлов. В дальнейшем регистрируется отрицательная аномалия, вызванная усилением токсического действия повышенных концентраций металлов по мере их аккумуляции в растении. Обнаруженный нами факт инверсии спектральных контрастов заслуживает пристального внимания и дополнительных исследований, т.к. несомненно связан с влиянием тяжелых металлов на фотосинтетические процессы, водный обмен, состояние метаболитной сети, и его дальнейшее изучение может внести вклад в установление механизмов устойчивости растений к абиотическим стрессорам. В зависимости от стадии развития растения и концентрации вносимого металла этап стимуляции может отсутствовать, что наблюдается, например, у сеянцев *Sinapis alba* в более позднюю фазу вегетации. Амплитуда спектральных аномалий, скорость их возникновения и длительность существования позволяют установить межвидовые различия устойчивости растений к тяжелым металлам и степень токсического действия отдельных металлов. Наиболее резкие различия КСЯ между растениями опытного и контрольного вариантов отмечаются при воздействии на растения Cu, аномалии меньшей амплитуды характерны для Zn и Ni. По степени устойчивости к испытанным концентрациям тяжелых металлов изученные виды травянистых растений располагаются в следующей возрастающей последовательности: *Sinapis alba* < *Fagopyrum esculentum* < *Phaseolus vulgaris* < *Helianthus annuus*) и древесных растений (*Quercus robur* ≤ *Acer platanoides*). Таким образом, избыток тяжелых металлов в среде выращивания изученных видов опытных растений обуславливает изменение их спектральных отражательных характеристик по сравнению с контрольными растениями. С помощью видеогиперспектральной съемки проявления токсичности металлов в отношении растений могут быть зарегистрированы в кратчайшие сроки до появления визуально определяемых реакций. Наибольшее значение для индикации таких проявлений имеет анализ спектральных изображений в ближней ИК-зоне 750–900 нм. Однако для диагностики тех или иных параметров растений может быть использован весь диапазон спектральной чувствительности от 400 до 2500 нм. Регистрация и анализ спектральных аномалий растений, возникающих в ответ на действие стрессовых абиотических факторов, имеет также и большое прикладное значение, т.к. позволяет более эффективно проводить экологический мониторинг и решать глобальные проблемы в области экологической безопасности.

Сравнение экспрессии генов, кодирующих H^+-АТФазу плазмалеммы клеток колеоптилей риса

***Емельянов В.В.*[*], *Бертова А.Д.*[*], *Богданова Е.М.*[*], *Бикташева М.О.*[*], *Мухина Ж.М.*[**], *Шишова М.Ф.*[*]**

[*] Санкт-Петербургский государственный университет, Университетская наб., 7/9, Санкт-Петербург, Россия;
[**] ФГБНУ «Федеральный научный центр риса», Краснодар, пос. Белозерный 3.
mshishova@mail.ru

Рост растяжением – уникальный тип роста, свойственный растительным организмам. Одним из модельных объектов для выявления молекулярных механизмов этого процесса являются колеоптили злаковых. Со времен Ч. Дарвина колеоптили этиолированных проростков использовали для изучения роли фитогормона ауксина в инициации грави- и фототропизмов, базирующихся на неравной интенсивности роста. Согласно теории кислого роста, рост растяжением основывается на ауксин-индуцированной активации H^+-АТФазы плазмалеммы, генерирующей трансмембранный градиент ионов водорода.

Рост растяжением наблюдается и в условиях гипо- и аноксии, т.е. при недостатке кислорода. Такие условия наблюдаются при затоплении. Можно предположить, что интенсификация роста колеоптилей является первым этапом «стратегии избеганием гипоксии», свойственной целому ряду гидрофитов, в том числе рису, как представителю окультуренных злаков.

Клетки колеоптилей проростков риса характеризуются способностью к интенсивному росту растяжением. Несмотря на целый ряд исследований, механизмы этого типа роста во многом остаются еще дискуссионными. До сих пор не выяснена роль H^+-АТФазы плазмалеммы в обеспечении этого способа роста, отличающегося резко сниженным уровнем АТФ в клетках в результате энергетического кризиса в условиях гипоксии.

Задача данного исследования заключалась в анализе интенсивности роста растяжением колеоптилей риса при затоплении, а также характера экспрессии генов, кодирующих H^+-АТФазу плазмалеммы (ПМ) в клетках колеопилей риса. Ранее на других модельных растениях было показано, что спектр экспрессируемых генов зависит от этапа развития, ткани и действующих факторов. Известно, что у растений риса H^+-АТАаза ПМ кодируется семейством, насчитывающим 10 генов *OSA*. В отличие от условий нормоксии, гипоксия вызывала более продолжительный рост колеоптилей - 6 суток. В связи с этим динамика накопления транскриптов генов интереса была проанализирована на 3, 5 и 7 сутки, т.е. этапах начала роста, его максимальной интенсивности и завершения. Показано, что большая часть протестированных генов характеризовались усилением экспрессии на начальных этапах роста. Для двух генов - *OSA5* и *OSA6* этот уровень еще более увеличивался при недостатке кислорода. Полученные результаты свидетельствуют о возможности регуляции активности протонного насоса плазмалеммы клеток колеоптилей риса на транскрипционном уровне в условиях гипоксии.

Исследование поддержано РНФ № 22-14-00096.

Свободные жирные кислоты и процессы свободнорадикального окисления в митохондриях растений в условиях гипоксии.

Ершова А.Н.

Воронежский государственный педагогический университет, ул. Ленина, 86, Воронеж, Россия.
profershova@mail.ru

Наиболее чувствительной частью растительной клетки являются митохондрии. Поэтому изменения состояния митохондрий и, в частности, их мембран относят к одному из механизмов «срочной» адаптации клетки к тому или иному воздействию. Установлено, что свободные жирные кислоты могут выступать высокоэффективными регуляторами структурного состояния и фосфорилирующей активности митохондрий. Образование свободных жирных кислот обычно связано с превращением фосфолипидов. Часть образовавшихся в клетке свободных жирных кислот может использоваться на синтез нейтральных липидов и фосфолипидов, переноситься из одного вида липидов в другие, а также подвергаться свободнорадикальному окислению. Накопление свободных жирных кислот в митохондриях отмечается при воздействии различных неблагоприятных факторов. Исследовали влияние условий кратковременной (3-24 час.) гипоксии и среды высоких концентраций диоксида углерода на свободные жирные кислоты и скорость процессов свободнорадиканого окисления в митохондриях проростков кукурузы.
Митохондрии выделяли методом дифференциального центрифугирования, чистоту фракций определяли по маркерным ферментам цитохром-с-оксидазе и СДГ. Свободные жирные кислоты митохондрий 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 свободно-радикального окисления оценивали методом железо-индуцированной хемилюминесценции.
Было обнаружено, что среди свободных жирных кислот основную долю составляли те же жирные кислоты, что и в составе фосфолипидов мембран митохондрий растений кукурузы, как это было показано нами ранее. При гипоксии отмечалось снижение содержания в митохондриях насыщенных свободных жирных кислот, таких как стеариновая и миристиновая. Содержание пальмитиновой кислоты при этом значительно не изменялось. Одновременно в митохондриях увеличивалось содержание ненасыщенных моно- и диеновых свободных жирных кислот, таких как пальмитолеиновая и линолевая. В большей степени это увеличение было характерно для проростков, находившихся в среде CO_2. Изменения по возрастанию уровня ненасыщенности свободных как моно-, так и диеновых жирных кислот митохондрий, были заметны начиная с 9 часов воздействия как гипоксии, так и среды диоксида углерода и наблюдались до конца опыта. В результате этого к концу опыта происходило повышение степени ненасыщенности (u/s) свободных жирных кислот митохондрий с 1.14 до 1.21 и с 1.00 до 1.56 соответственно. После 3-6 часов действия гипоксии и среды высоких концентраций диоксида углерода в митохондриях среднеустойчивых растений кукурузы повышалась на 20-50% и скорость свободно-радикального окисления. При этом отмечалось накопление супероксидного анион-радикала при гипоксии на 30%. Происходило увеличение содержания пероксида водорода уже в первые часы действия газовых сред. С помощью специфических ингибиторов доказано присутствие фермента липоксигеназы в митохондриях проростков кукурузы. Показано, что активность липоксигеназы, участвующей в окислении как свободных, так и связанных в фосфолипидах мембран жирных кислот, существенно повышалась в митохондриях проростков при действии гипоксического стресса и CO_2-среды, но только в первые часы опыта. Затем активность липоксигеназы снижалась и становилась ниже уровня аэрируемых растений.
Проведенные исследования показали, что уже при кратковременном (до суток) действии гипоксии на проростки кукурузы в фонде свободных жирных кислот митохондрий увеличивалось содержание ненасыщенных кислот, включая полиеновые кислоты. Обладая детергенным действием, они могли усиливать процессы ПОЛ в митохондриях растений в условиях дефицита кислорода. Это подтверждается обнаруженным увеличением в митохондриях растений кукурузы в условиях гипоксии скорости процессов свободно-радикального окисления, которые сопровождались накоплением АФК, таких как супероксид-анион и пероксид водорода. Образование данных форм АФК обычно связывают со сбоем в работе ЭТЦ-дыхания. Однако обнаруженная активация фермента липоксигеназы в первые часы действия газовых сред показывает возможность участия и липоксигеназного пути в усилении процессов свободнорадикального окисления в митохондриях растений кукурузы при кратковременных экспозициях в условиях гипоксии и высоких концентраций диоксида углерода.

Натрий μ2-дитиосульфато-тетранитозилдиферрат тетрагидрат повышает устойчивость растений к стрессовым воздействиям

***Жигачева И.В*[*]*., Крикунова Н.И*[*]*., Генерозова И.П*[**]*., Буцанец П.А*[**]*.Васильев С.В.*[**]

[*] ФГБУНИнститут биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, ул. Косыгина,4, Москва, Россия,
[**] ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Ботаническая ул., 35, Москва, Россия.
zhigacheva@mail.ru

Ранее мы показали, что обработка семян гороха донором NO -натрий μ2-дитиосульфато-тетранитозилдиферрат тетрагидратом (комплексом железа с тиосульфатом) $[Na_2\ [Fe_2\ (S_2O_3)_2\ (NO)_4]_2 \times 4H_2O$ (ТНКЖ-тио) повышала устойчивость проростков гороха к дефициту воды. Интересно было исследовать механизмы защитного действия этого препарата. Реализация антистрессовых программ растением требует больших энергетических затрат и митохондрии играют одну из ключевых ролей в ответе организма на действие стрессовых факторов. В связи с этим изучали влияние различных концентраций ТНКЖ-тио на функциональное состояние митохондрий этиолированных проростков гороха. Часовая обработка митохондрий 10^{-4}М препарата приводила к значительному увеличению содержания насыщенных жирных кислот (ЖК) в мембранах митохондрий. При этом снижалось содержание ненасыщенных C_{20} ЖК, а содержание ЖК, входящих в состав кардиолипина – линолевой и линоленовой - возрастало на 4 и 40% соответственно, что отразилось на биоэнергетических характеристиках митохондрий.. В данной концентрации препарат действовал разобщающе на процессы окисления и фосфорилирования.. Обработка митохондрий 10^{-8} М препарата также сопровождалась повышенным содержанием насыщенных ЖК. При этом содержание ненасыщенных C_{20} ЖК, возрастало на 25-45%, и на 20% увеличивались скорости окисления сукцината в фосфорилирующем состоянии и повышалась эффективность окислительного фосфорилирования. Таким образом 10^{-8}М ТНКЖ-тио обеспечивал эффективное функционирование дыхательной цепи митохондрий за счет сохранения/увеличения пула ненасыщенных ЖК, способствующих поддержанию текучести мембран
.

Влияние цинка на клеточный рост корня у исключателя *Microthlaspi perfoliatum* и гипераккумулятора *Noccaea caerulescens*

Жуковская Н.В., Иванов В.Б., Кожевникова А.Д., Серегин И.В.

Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева РАН. Ботаническая ул., 35, Москва, Россия.
ecolab-ipp@yandex.ru

Тяжелые металлы, в том числе цинк, приводят к нарушению роста и морфогенеза растений. Известно, что по способности накапливать металлы растения делятся на исключатели и гипераккумуляторы. Мало что известно о том, как действует цинк на пролиферацию клеток меристемы, растяжение клеток и переход их к растяжению у этих двух противоположных групп. Кроме того, существенно, что скорость перехода клеток к растяжению в корнях зависит от интенсивности делений. Поэтому для более полного понимания механизма изменения скорости роста корней при действии цинка важно выяснить, как влияет цинк на отдельные процессы, из которых слагается рост корня. Растущая часть корня состоит из меристемы и зоны растяжения. Скорость роста корня зависит от скорости образования клеток в меристеме, скорости перехода их к растяжению и от длины закончивших рост клеток. Если корень растет с постоянной скоростью, скорость перехода клеток к растяжению равна скорости образования клеток в меристеме. Для того, чтобы проанализировать эффект цинка на рост корня, необходимо провести полный клеточный анализ, который позволит оценить, как цинк влияет на скорость образования клеток, продолжительность клеточного цикла, время жизни клеток в меристеме и скорость перехода клеток к растяжению. Целью настоящей работы было изучение влияния цинка в широких пределах концентраций на отдельные процессы клеточного роста корня у исключателя *Microthlaspi perfoliatum* и гипераккумулятора *Noccaea caerulescens*. Семена высевали на влажный грунт, состоящий из вермикулита и перлита. Проращивание семян и эксперименты проводили в климатической камере (температура 20/15 ° С день / ночь; освещенность 250 мкмоль $м^{-2}$ $с^{-1}$ на уровне растений, 14 ч $д^{-1}$; относительная влажность 70%). После появления всходов их пересаживали в 5-литровые сосуды с 1/4 нормы раствора Хогланда. После доращивания до длины главного корня 3-5 см растения переносили на 1-литровые сосуды с 1/2 нормы раствора Хогланда с добавлением pH-буфера MES без цинка или с цинком (сульфат). Прирост корней измеряли на 3-е, 6-е и 9-е сутки инкубации у проростков с фиксацией корней и побегов части растений в эти же сутки в 70% спирте для дальнейшего клеточного анализа. Фиксированные корни ополаскивали дистиллированной водой и помещали сначала в 25% глицерин, а потом в каплю 50% глицерина на предметное стекло и накрывали покровным стеклом. Временные препараты корней были изучены под микроскопом Axio Imager Z2 (Carl Zeiss). Анализ влияния цинка на клеточные параметры роста и деления клеток показал, что под влиянием использованных концентраций цинка размер меристемы и длина закончивших рост клеток уменьшалась как у исключателя, так и у гипераакумулятора. С увеличением концентрации цинка также увеличивалась длительность митотического цикла. Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что как у гипераккумуляторов, так и у исключателей цинк в большей степени тормозит рост растяжением и в меньшей степени влияет на деление клеток, не оказывая избирательного действия на само деление и рост клеток меристемы. Следовательно, рост корня при действии Zn тормозится главным образом за счет уменьшения скорости перехода клеток к растяжению и самого растяжения.

Исследования выполнены за счет средств Российского научного фонда (проект № 21-14-00028, https://rscf.ru/project/21-14-00028/).

Рост-стимулирующие эффекты ауксинов на сосне обыкновенной и ели европейской

Злобин И.Е., Карташов А.В., Иванов Ю.В., Иванова А.И., Пашковский П.П., Кузнецов Вл.В.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Ботаническая ул., 35, Москва, Россия.
ilya.zlobin.90@mail.ru

Засуха является важнейшим абиотическим фактором, снижающим продуктивность лесных фитоценозов особенно на фоне возрастающего техногенного давления человека на окружающую среду. Одним из важнейших следствий действия водного дефицита в летний период является сильное подавление ростовых процессов у древесных растений, что снижает их продуктивность, препятствует восстановлению от действия водного дефицита и делает растения более уязвимыми к засухе в последующие годы. В связи с этим, одним из возможных путей повышения устойчивости к засухе является усиление ростовых процессов в те промежутки вегетационного периода, в которых имеются благоприятные по увлажненности условия для роста, а именно в весенний и осенний период. Рост растений регулируется в первую очередь фитогормонами, а ключевым классом рост-стимулирующих гормонов являются ауксины. В связи с этим, в данном исследовании была поставлена задача изучить эффекты экзогенных ауксинов на ростовые процессы саженцев сосны и ели в контексте изменения их устойчивости к засухе.

При действии на саженцы сосны и ели ауксинов в весенний период (апрель-май) был установлен стимулирующий эффект гормонов на первичный рост побега текущего года, более выраженный у ели, чем у сосны. При этом отсутствовал устойчивый рост-стимулирующий эффект ауксинов на прирост ксилемы и корневой системы растений, что может повысить восприимчивость растений к действию водного дефицита в летний период.

При действии на саженцы ауксинов в летне-осенний период (август-октябрь) не наблюдалось стимулирующего эффекта ауксинов на первичный рост, который к этому времени уже полностью прекратился. Напротив, было обнаружено стимулирующее действие ауксинов на рост ксилемы и корневой системы сеянцев сосны, хотя для ели аналогичные эффекты не наблюдались. Основным естественным источником ауксинов в хвойных растениях является растущая хвоя, поэтому к августу-сентябрю выработка эндогенных ауксинов практически прекращается. По всей видимости, это и является объяснением выраженного стимулирующего эффекта экзогенных ауксинов на рост ксилемы и корневой системы. Рост водопоглощающей поверхности и проводящих тканей в летне-осенний период может усиливать процессы восстановления после действия водного дефицита, а также повышать способность растений переносить засуху в следующий вегетационный период.

Изучение механизмов рост-стимулирующего действия ауксинов на растениях сосны в летне-осенний период показало, что при действии ауксинов повышается концентрация неструктурных углеводов в корнях, т.е. усиливается акцепторная активность корня и транспорт в него ассимилятов из надземной части. В то же время, содержание неструктурных углеводов в камбиальной зоне снижается. Таким образом, ауксины оказывают влияние на донорно-акцепторные отношения у растений, хотя рост-стимулирующий эффект ауксинов не связан напрямую с повышением акцепторной активности тканей.

Данная работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект номер 21-14-00168).

Влияние микроэлементов на накопление полифенолов в листьях растений чая

***Зубова М.Ю.*[*], *Каирбекова Д.*[**], *Назаренко Л.В.*[**], *Малюкова Л.С.*[***]**

[*] Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Ботаническая ул., 35, Москва, Россия;
[**] Московский городской педагогический университет, Институт естествознания и спортивных технологий, ул. Чечулина, 3, Москва, Россия;
[***] Федеральный исследовательский центр «Субтропический научный центр РАН, ул. Яна Фабрициуса, 2/28, Сочи, Россия.
mariia.zubova@yandex.ru

Растения чая (*Camellia sinensis* L.) представляют собой уникальную субтропическую культуру, молодые побеги которой используются для промышленного получения традиционного во всем мире продукта – чая. Качество чая определяется составом и содержанием фенольных соединений (ФС), в том числе флаванов (ФЛ) – веществ с Р-витаминной капилляроукрепляющей активностью.

Биосинтетическая способность растений чая зависит не только от их сортовых характеристик и стадий онтогенеза, но и условий произрастания. И в это случае важное значение имеет внесение в почву макро- и микроэлементов, способствующих повышению их продуктивности. Дефицит микроэлементов приводит к существенному снижению продуктивности растений и качества получаемой продукции, что негативно влияет на здоровье человека.

Целью исследования было сравнение накопления фенольных соединений в листьях однолетних побегов растений чая, произрастающих на плантациях при обычном уровне минерального питания и в присутствии микроэлементов (B, Zn).

Растения чая (сорт Колхида) произрастали во влажной субтропической зоне России, на промышленной плантации, в условиях полевых многолетних опытов с применением микроудобрений (Zn, B), под влиянием которых с течением времени были сформированы микро-участки (опытные делянки), различающиеся по химическому составу почв. В качестве микроудобрений использовали $ZnSO_4$ и H_3BO_3 (4,3 и 6 кг/га действующего вещества, соответственно). Для исследования использовали листья однолетних побегов, собранные в июле месяце 2021 года и зафиксированные жидким азотом для последующих биохимических определений.

ФС извлекали из растительного материала экстракцией 96%-ным этанолом. Суммарное содержание ФС и содержание флаванов определяли спектрофотометрическим методом по реакции с реактивом Фолина-Дениса и ванилиновым реактивом, соответственно.

К числу важных регуляторов жизнедеятельности растений относится Zn, роль которого разнообразна и многопланова. Как следует из полученных нами данных, количество этих метаболитов в листьях однолетних побегов чая повышалось, что в большей степени было характерно для накопления флаванов (на 17% по сравнению с контролем).

Другим важным микроэлементом для роста растений является B, недостаток или избыток которого влияют на их продуктивность и устойчивость к различным воздействиям. При его внесении в почву, содержание ФС, особенно флаванов, в листьях растений чая превышало таковое контрольного варианта (на 25%).

Все вышеизложенное свидетельствует о регуляторном действии микроэлементов, в частности Zn и B, на метаболические процессы в растениях *Camellia sinensis* L. Это проявлялось в более высоком накоплении в их молодых листьях флаванов – биологически активных соединений с Р-витаминной активностью, обуславливающих качество продукта (чая), получаемого из этой культуры промышленного использования.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований и Администрации Краснодарского края № 19-416-230049.

Корреляции между продолжительностью митотического цикла и параметрами клеточного роста в апикальной меристеме корня

Иванов В.Б., Жуковская Н.В., Быстрова Е.И., Лунькова Н.Ф.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Ботаническая ул., 35, Москва, Россия.
ivanov_vb@mail.ru

Определение длительности митотического цикла имеет важнейшее значение для понимания организации роста, механизмов изменения скорости роста при разных воздействиях у разных видов или сортов. Рост корня зависит от образования новых клеток и их растяжения. Скорость образования клеток зависит от числа делящихся клеток и длительности митотического цикла, которые регулируются разными механизмами. Зная длительность митотического цикла, можно рассчитать скорости накопления разных соединений, а не только их содержания и рассчитать параметры роста клеток растяжением. Ранее нами был предложен простой метод оценки длительности митотического цикла, основанный на динамике роста корней, количестве клеток в меристеме и длине закончивших рост клеток. Длительность митотических циклов определяли в первичных корнях проростков. Кроме того, мы проанализировали литературные данные по длительности митотических циклов в корнях 110 видов, полученных тимидиновым методом, и получили результаты, совпадающие с полученными нашим методом. Мы определили длительность митотического цикла в корнях 220 видов однодольных и двудольных видов. У большинства видов, за исключением порядков Asparagales и Liliales, длительности митотических циклов достоверно не различались среди однолетних и многолетних видов, а также среди однодольных и двудольных растений. Различия в скоростях роста корней разных видов в большей степени определяются различиями в размерах меристем и числе пролиферирующих клеток, чем продолжительностью митотических циклов. Оказалось, что у полиплоидов и диплоидов с числом хромосом больше 14 длительность цикла не зависела от голоплоидного содержания ДНК. Также была определена длительность митотического цикла в корнях *Noccaea caerulescens* при действии различных концентраций цинка. Анализ влияния цинка на клеточные параметры роста и деления клеток показал, что под влиянием использованных концентраций цинка размер меристемы и длина закончивших рост клеток уменьшалась. С увеличением концентрации цинка длительность митотического цикла возрастала.

Исследования, проведенные на растениях Noccaea caerulescens выполнены за счет средств Российского научного фонда (проект № 21-14-00028, https://rscf.ru/project/21-14-00028/). Исследования, проведенные на растениях других видов, выполнены в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 121040800153-1).

Механизмы регуляции фотосинтетической активности инвазионных видов растений на уровне микроструктуры листа

***Иванова Л.А.*[*,**], *Валиева А.К.*[*], *Ронжина Д.А.*[*,**], *Мигалина С.В.*[*,**], *Юдина П.К.*[*,**], *Хапугин А.А.*[*], *Кузьмин И.В.*[*], *Журавлев А.С.*[*], *Иванов Л.А.*[*,**]**

[*] Тюменский государственный университет, ул. Володарского, 6, Тюмень, Россия;
[**] Ботанический сад УрО РАН ул. 8 Марта, 202а, Екатеринбург, Россия.
Ivanova.Larissa@list.ru

Жизнеспособность и распространение чужеземного вида на новой территории определяется его физиологическими свойствами, которые должны соответствовать физической среде обитания в данной местности. Наиболее важным физиологическим процессом для адаптации и продуктивности растений является фотосинтез. В последние годы среди ведущих экспертов в области газообмена растений сформировалось мнение, что для выявления механизмов регуляции фотосинтетического процесса недостаточно рассматривать лишь биохимическую модель фотосинтеза, а необходимо принимать во внимание реальную микроструктуру листа. В настоящее время убедительно показано, что из всех листовых признаков наиболее важными для адаптации растений к климату являются структура и функциональные параметры мезофилла – основной фотосинтетической ткани листа. При этом недостаточно использовать один-два параметра, например, толщину хлоренхимы или размеры мезофильной клетки, а необходимо учитывать всю комплексную структуру мезофилла, включая интегральные показатели его трехмерной организации. Нами исследованы структурные и физиологические признаки листьев наиболее опасных инвазионных видов растений *Heracleum sosnowskyi* (борщевика Сосновского) и *Impatiens glandulifera* (недотроги железистостебельной) на Урале и в Западной Сибири. Анализ трехмерной структуры листьев показал, что у обоих видов механизмы адаптации мезофилла к изменению условий среды были сходными и заключались в изменении размеров фотосинтетических клеток и толщины мезофилла без изменения числа клеток в единице площади листа. Число хлоропластов в клетке у обоих видов мало варьировало с изменением условий произрастания и было высокоспецифичным видовым признаком, составляя 35-40 хлоропластов на клетку у недотроги и 30-36 у борщевика. Затенение со стороны листового полога растительного сообщества, в которое внедрялся инвайдер, у обоих видов приводило к уменьшению объема клетки палисадной и губчатой ткани в 1.2-1.8 раза, что в свою очередь способствовало разрыхлению клеточной упаковки мезофилла, увеличению объема и доли межклетников, увеличению отношения поверхность/объем мезофилла. В результате гидродинамического моделирования диффузии углекислого газа внутри построенных трехмерных моделей листьев изучаемых видов установлено, что перестройка мезофилла при смене условий ведет к изменению коэффициента извилистости межклеточных пространств, имеющего принципиальное значение для скорости поглощения углекислого газа листом. Достижение необходимого значения коэффициента извилистости обеспечивает поддержание уровня поглощения CO_2 листом в данных условиях. Найденные закономерности являются комплексным механизмом адаптации фотосинтетического аппарата инвазионных растений к условиям произрастания в местном климате в естественных растительных сообществах.

Дегидрогеназная активность *Glycine max* (L.). Merrill при проращивании

Иваченко Л.Е. [*]***, Огурцов И.Б.*** [*]***, Лаврентьева С.И.*** [*]***, Кузнецова В.А*** [**]

[*] Благовещенский государственный педагогический университет, ул. Ленина, 104, г. Благовещенск, Россия;
[**] Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, ул. Большая Морская, 42-44, г. Санкт-Петербург, Россия.
ivachenko-rog@yandex.ru

Одной из центральных проблем современного растениеводства является сокращение в мировом масштабе биоразнообразия сельскохозяйственных видов, что снижает возможности адаптации сельского хозяйства к меняющимся условиям окружающей среды, и приводит к появлению новых селекционных задач. Соя, как альтернативный источник полноценного белка и масла без холестерина, является основной сельскохозяйственной культурой на Дальнем Востоке. Для определения устойчивости растений к различным факторам среды используют разнообразные методы, в основе которых лежат изменения физиологических и биохимических процессов, происходящих в растениях. Важная роль в процессе адаптации к постоянно изменяющимся условиям среды принадлежит ферментам, особенно класса оксидоредуктаз. Но до сих пор мало изученными ферментами являются дегидрогеназы. Многие ферменты функционируют в виде множественных форм. По уровню изменения множественных форм ферментов можно глубже понять функционирование биологических систем в процессе устойчивости в ответ на разнообразные воздействия факторов среды. Изучение удельной активности и множественных форм малатдегидрогеназы, алкогольдегидрогеназы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в семенах и проростках сои на третьи и седьмые сутки выявило высокую гетерогенность малатдегидрогеназы, которую можно использовать в качестве маркера при создании адаптивных сортов сои к меняющимся факторам среды.

Дыхание на свету и в темноте растений сем. *Solanaceae* при круглосуточном освещении

Икконен Е.Н., Шибаева Т.Г., Шерудило Е.Г., Титов А.Ф.

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

Круглосуточное освещение считается одним из экономически выгодных приемов оптимизации процесса тепличного производства агропродукции, однако реакции основных физиологических процессов растений на данный фактор, в частности дыхания и степени его ингибирования светом, не до конца ясны. В данной работе исследовали влияние 16 и 24-часового фотопериодов на митохондриальное дыхание в темноте (R_d) и на свету (R_l), соотношение $1 - R_l/R_d$, отражающее степень светового ингибирования дыхания, а также баланс дыхания и гросс-фотосинтеза (A_g) у листьев баклажана (*Solanum melongena* L.), сладкого перца (*Copsicum annuum* L.) и томата (*Solanum lycopersicum* L.).

Растения выращивали в условиях контролируемой среды при 16 или 24-часовом фотопериоде. Световую кривую CO_2-газообмена листьев растений измеряли с использованием портативной фотосинтетической системы HCM-1000. Скорость R_l рассчитывали с использованием метода Kok экстраполяцией на ось Y прямой линии, аппроксимирующей значения CO_2-газообмена при 60, 40 и 20 мкмоль/(м^2 с) ФАР. Скорость R_d измеряли после 30-минутной адаптации растений к темноте.

Исследования показали, что независимо от вида растений и продолжительности светового дня, величина R_l была во всех случаях ниже, чем R_d. При 16-часовом фотопериоде свет ингибировал до 19, 31 и 34% дыхания соответственно у баклажана, сладкого перца и томата. Статистически значимое влияние продолжительности фотопериода на R_l и R_d проявлялось при расчете дыхания на единицу массы, но не площади листа. У баклажана и томата существенное снижение скорости дыхания происходило уже в начальный период (7 сут) воздействия 24-часового фотопериода. Дальнейшая экспозиция растений в условиях круглосуточного освещения оказывала влияние на дыхание листьев баклажана, но не томата. У сладкого перца круглосуточное освещение вызывало снижение скорости R_l и не влияло на величину R_d. Результаты показали некоторое различие между видами в отклике величины $1- R_l/R_d$ на 24-часовой фотопериод. Круглосуточное освещение увеличивало степень ингибирования дыхания светом до 36 и 46% у баклажана и сладкого перца и не влияло на данную величину у томата. Этот факт не только подтверждает вариабельность степени ингибирования дыхания светом между видами, но также может свидетельствовать о существовании определенной видовой специфичности в отклике растений на изменение световых условий роста на уровне биохимических реакций, ответственных за ингибирование дыхания. Несмотря на тесную корреляционную взаимосвязь скоростей R_d и R_l (r = 0.80), варьирование величины R_l/R_d зависело в большей степени от изменений R_l (r = 0.41), чем R_d (r = 0.12). Регрессионный и корреляционный анализы показали положительную зависимость скорости R_l от активности РБФК/О с достоверными коэффициентами корреляции r = 0.54 и r = 0.29 для оксигеназной и карбоксилазной активности РБФК/О, соответственно. Для скорости R_d, напротив, не выявлена достоверная взаимосвязь с этими параметрами. Снижение активности дыхательного метаболизма исследованных видов соответствует ранее сделанному выводу о возможности фотоповреждающего эффекта круглосуточного освещения на растения. Поскольку 24-часовой фотопериод вызывал определенные структурные изменения в листьях, отразившиеся на увеличении величины отношения массы листа к его площади, это могло быть одной из причин снижения величины R_l/R_d у растений баклажана и сладкого перца.

Таким образом, результаты исследования, проведенного с тремя видами растений сем. *Solanaceae* – баклажаном, сладким перцем и томатом подтвердили факт ингибирования светом митохондриального дыхания листьев, и показали, что длительность фотопериода может выступать одним из факторов, способных оказывать влияние на степень светового ингибирования дыхания. В условиях круглосуточного освещения ингибирование дыхания светом может усиливаться, что предположительно связано со структурными изменениями листьев и уменьшением оксигеназной активности РБФК/О. Отсутствие подобной реакции у томата свидетельствует о существовании определенной видовой специфичности в изменении дыхательной активности растений в ответ на круглосуточное освещение.

Работа выполнена в рамках государственного задания Карельского научного центра РАН (№ FMEN-2022-004) и при частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований в рамках научного проекта № 20-016-00033а. Исследования выполнены на научном оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра "Карельский научный центр Российской академии наук".

Влияние салициловой кислоты на метаболизм регенерантов картофеля сорта Луговской при холодовом стрессе

Кадырбаев М.К., Головацкая И.Ф.

Научный исследовательский Томский государственный университет, пр. Ленина, 36, Томск, Россия.
kadyrbaev.maks@mail.ru

В настоящее время наиболее часто встречаемым стрессором для картофеля в полевых условиях служит возвратное понижение температуры. Устойчивость растений к негативным факторам среды может регулироваться фитогормонами. Среди гормонов, отвечающих за устойчивость растений к возбудителям болезней, выделяют салициловую кислоту (СК).

Целью исследования было изучение роли корневой предобработки СК в регулировании процессов, повышающих регенеративные способности растений при холодовом стрессе.

Объектом исследования служили 28-дневные регенеранты картофеля среднеспелого сорта Луговской, полученные со среднего (СР) и верхушечного (АР) ярусов материнских оздоровленных растений на твердой питательной среде Мурассиге-Скуга (МС). После 2-х недельной адаптации к жидкой 50%-ной МС половину растений обрабатывали 4 часа 0,1 мкМ СК и культивировали 1 неделю. Затем обработанные (опыт) и необработанные СК (контроль) регенеранты помещали в условия пониженной температуры 4 ^{o}C на 3 суток с последующим перемещением в условия при 22 ^{o}C на 10 суток.

В условиях аквакультуры контрольные СР имели преимущественный рост корня в длину, в то время как другие параметры были выше у АР. Обработка СК увеличивала площадь и массу листьев СР, длину корня, площадь и массу листьев АР. Действие охлаждения тормозило рост и развитие регенерантов картофеля обеих линий, снижая накопление массы и рост поверхности листа, уменьшая количество столонов. Наибольшие повреждения побега происходили у АР, тогда как корней – у СР. Действие СК на рост регенерантов после охлаждения выражалось в увеличении всех ростовых показателей относительно необработанных СК растений. У СР 2-, 3- и 5-кратно увеличивалась масса стебля, корня и листьев, а также 3-кратно увеличилась площадь поверхности листьев. У АР СК корректировала все негативные ростовые реакции в ответ на действие охлаждения. При этом СК не смогла восстановить у СР контрольное количество столонов и ярусов, тогда как у АР – массу всех органов и площадь поверхности листа.

Различия ростовых процессов у регенерантов двух линий были опосредованы неодинаковыми интенсивностями метаболических процессов. Анализ окислительного статуса листьев среднего яруса показал, что в оптимальных условиях СР имели более высокий уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ), чем АР. Гипотермия вызывала увеличение интенсивности ПОЛ, являющегося индикаторной реакцией повреждения клеточных мембран, у обеих линий регенерантов. Корневая обработка СК снижала окислительный статус клеток листа.

Показано изменение содержания пролина в листьях, который может оказывать стабилизирующее действие на мембраны, уменьшает осмотический стресс, защищает белки от денатурации, участвует в передаче стрессового сигнала, регулирует redox потенциал клетки, участвует в инактивации свободных радикалов, образуя с ними долгоживущие конъюгаты. Исходные контрольные СР имели более высокий уровень пролина, чем у АР. Гипотермия приводила к увеличению уровня пролина относительно контроля как у СР, так и у АР. Обработка СК снижала его уровень у обоих регенерантов относительно СК-необработанных регенерантов. Это может свидетельствовать о подключении других защитных систем организма.

Более медленно растущий контрольный СР характеризовался большим содержанием антоцианов (Ант) в листьях среднего яруса по сравнению с АР. При этом торможение роста можно связать с отвлечением углеводов на синтез Ант. При гипотермии уровень Ант снижался у СР и повышался у АР. СК снижала уровень Ант у обеих линий регенерантов, восстанавливая у АР контрольный уровень пигментов.

У контрольных СР и АР отмечен одинаковый уровень аскорбиновой кислоты (АК). Функции этого метаболита состоят в восстановлении многих свободных радикалов и снижении разрушительных воздействий окислительного стресса. Гипотермия увеличивала уровень АК у АР, не меняя у СР. Предобработка СК до гипотермии уменьшала уровень АК у АР, не изменяя у СР.

Таким образом, показано, что применение корневой обработки СК низкой концентрации до охлаждения активирует защитные механизмы растений-регенерантов картофеля, что способствует координированию ростовых процессов и сохранению важной функции столонообразования. Корневая предобработка СК эффективно смягчает стресс, испытываемый растениями после охлаждения. Однако наблюдаются различия в снижении стресса у разных линий регенерантов. Стресс в корне наиболее эффективно снижается действием СК у СР, тогда как восстановление побега (столонообразования и закладки новых листьев) проходит лучше у АР. Предварительная корневая обработка СК повышает холодостойкость картофеля и может применяться в сельском хозяйстве. Данные показывают возможность разработки способа повышения устойчивости к гипотермии растений картофеля.

Исследование выполнено при поддержке Программы развития Томского государственного университета (Приоритет-2030).

Влияние условий моделируемого космического полета на *Arabidopsis thaliana* и *Lactuca sativa*

***Казакова Е.А.*[*], Подлуцкий М.С.*[*], Бабина Д.Д.*[*], Подобед М.Ю.*[*], Празян А.А.*[*], Шестерикова Е.М.*[*], Пишенин И.А.*[*], Сабуров В.О.*[**], Моисеев А.С.*[**], Казаков Е.И.*[**], Горбатова И.В.*[*], Волкова П.Ю.*[*]**

[*] ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии», Киевское шоссе 109 км, Обнинск, Россия;
[**] МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Обнинск, Россия.
elisabethafeb19@gmail.com

Современной задачей космической биологии является поиск возможностей, которые приведут к увеличению устойчивости растений к условиям космоса, так как в планируемых межпланетных миссиях растительные системы будут служить компонентом биорегенеративных систем жизнеобеспечения и источником свежего питания для космонавтов. Применение омикс-подходов в комплексе с оценкой морфофизиологических и биохимических характеристик растений помогут в расшифровке механизмов действия космических излучений и микрогравитации на растения и создании устойчивой культуры для выращивания на космическом корабле.

В наших работах потомков *Arabidopsis thaliana* L., долговременно произрастающих на радиоактивно загрязненной территории в результате аварии на ЧАЭС (ChE), *A. thaliana* типа Col-8 и культурное растение *Lactuca sativa* L. «Мунред» подвергали воздействию условий моделируемого космического полета: облучению протонами в сочетании с клиностатированием, а также отдельно облучению протонами и клиностатированию. Общая поглощенная доза для каждого образца составляла 10 Гр, энергия протонов 100 МэВ, скорость вращения 3D-клиностата 60 об/мин. Для *A. thaliana* был изучен транскриптом, метаболом, параметры фотосинтеза и площадь поверхности листьев проростков. Для *L. sativa* оценены морфологические, фотосинтетические характеристики проростков и концентрация свободных аминокислот в растениях.

В результате анализа транскриптома *A. thaliana* ChE и Col-8 выявлены гены, изменяющие свою экспрессии в ответ на действие моделируемых условий космического перелета. Выполнено сравнение дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ) между экспериментальными условиями для каждого типа и между ChE и Col-8. Идентифицированы общие и уникальные ДЭГ, связанные, в частности, с репарацией ДНК, репликацией, процессом транскрипции (TF), метаболизмом белков и углеводов, организацией цитоскелета, защитными реакциями растений, передачей сигналов. С помощью хроматографии в тандеме с масс-спектрометрией определены метаболиты, изменяющие концентрации при воздействии экспериментальных условий. Показано, что воздействие стрессоров влияло на параметры фотосинтеза, но не изменяло площадь поверхности листьев *A. thaliana*.

Установлено, что влияние моделируемых космических условий на *L. sativa* снижало площадь поверхности листовых пластинок, площадь купола листьев, свежую и сухую массу корней и побегов растений салата, не изменяло количество настоящих листьев, влияло на параметры фотосинтеза и концентрации некоторых свободных аминокислот.

Полученные результаты дополняют и расширяют знания космического растениеводства о влиянии экстремальных условий космоса на культуру-кандидат *L. sativa* и на *A. thaliana* ChE и Col-8 и могут быть полезны в поиске детерминант для получения устойчивых к космическим условиям растений.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук № МК-3142.2021.1.4 (Lactuca sativa), гранта РНФ № 20-74-00101 (Arabidopsis thaliana).

Жасмоновая кислота - как фактор повышения эффективности применения гормональных соединений в борьбе с филлоксерой

Казахмедов Р.Э.

Дагестанская селекционная опытная станция виноградарства и овощеводства.
kre_05@mail.ru

Филлоксера –один из опаснейших вредителей виноградного растения. Привитая культура винограда решила проблему не в полной мере. Предложен ряд высококачественных сортов винограда отечественной селекции для возделывания в корнесобственной культуре. На основе многолетних лабораторных, вегетационных и полевых исследований нами разработаны элементы технологии повышения устойчивости винограда к филлоксере и увеличения срока эксплуатации корнесобственных насаждений винограда в зоне сплошного заражения филлоксерой на основе применения физиологически активных соединений гормонального и трофического действия.

Цель данной работы - выявить влияние совместного применения жасмоновой кислоты с перспективными физиологически активными соединениями различного механизма действия на биохимические особенности корней винограда в связи с устойчивостью к филлоксере.

Работа выполнялась на производственно- экспериментальной базе ДСОСВиО филиала СКФНЦСВВ. Объект исследований - однолетние растения сортов Бианка, Ркацители, Молдова, Агадаи, Первенец Магарача, Декабрьский, Подарок Магарача, Антей магарачский, Кобер 5 ББ, двухлетние растения сорта Агадаи на фоне филлоксеры; физиологически активные соединения различного механизма действия: цитокининового (ЦАС); ауксинового (НАС); трофического (ЭАС) действия, а также жасмоновая кислота (ЖАС).

Исследовано влияние жасмоновой кислоты на процессы сопротивления винограда вредителю при раздельном и совместном применении с препаратами ЦАС, НАС и ЭАС. Изучен характер изменения содержания БАВ в корнях при атаке филлоксеры и обработке растворами препаратов у толерантных сортов винограда, что позволило приблизиться к пониманию механизмов формирования устойчивости к вредителю на биохимическом уровне.

Сорта винограда, толерантные к корневой филлоксере, имеют разный биохимический и гормональный статусы вне заражения вредителем, которые изменяются в различной степени в ответ на заражение филлоксерой и обработку ФАС. Результаты исследований свидетельствуют о сопряженности и вовлеченности углеводного, аминокислотного и фенольного обменов в процесс ответной реакции и приспособление виноградного растения к вредителю при соответствующем гормональном статусе, но процесс не носит однозначный и однонаправленный характер. Эффекты применения ЖАС (характер изменения, содержание ИУК и АБК, ароматических аминокислот тирозин и фенилаланин и др.) предполагают усиление действия ЦАС+НАС+ЭАС на устойчивость винограда к корневой филлоксере.

Реакция растений пшеницы с разным аллельным статусом гена *Gpc-B1* на недостаток цинка в корнеобитаемой среде

***Казнина Н.М.*[*], *Дубовец Н.И.*[**], *Батова Ю.В.*[*], *Игнатенко А.А.*[*], *Репкина Н.С.*[*], *Орловская О.А.*[**]**

[*] Институт биологии – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук», ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Россия;
[**] Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, ул. Академическая, 27, Минск, Беларусь.
kaznina@krc.karelia.ru

По данным ВОЗ в настоящее время более 2 млрд. человек в мире испытывают дефицит цинка, что проявляется в ухудшении здоровья населения, увеличении заболеваемости и уровня смертности. Вследствие этого проблема устранения дефицита этого микроэлемента объявлена приоритетным направлением мировых исследований. Поскольку цинк поступает в организм человека в основном с растительной пищей, наиболее эффективным и экономически оправданным подходом к решению этой проблемы является повышение его содержания в зерне основных сельскохозяйственных культур. Определенные успехи в этом направлении были достигнуты благодаря использованию метода отдаленной гибридизации, в результате чего были созданы линии пшеницы (*Triticum aestivum*) с генетическим материалом *T. dicoccoides*, содержащие функциональный аллель гена *Gpc-B1*. Этот ген кодирует белок, принадлежащий NAC семейству транскрипционных факторов, и влияет на ремобилизацию азота и ряда микроэлементов, включая цинк, из листьев в колос. Установлено, что растения с функциональным аллелем гена *Gpc-B1* имеют более высокое содержание цинка в зерне, по сравнению с растениями, у которых аллель этого гена нефункционален. Однако механизмы, лежащие в основе такого эффекта, пока не вполне понятны. Неизвестна также ответная растений с разным аллельным статусом этого гена на дефицит цинка.

Целью настоящего исследования явилось изучение ответной реакции на недостаток цинка в корнеобитаемой среде растений мягкой пшеницы четырех интрогрессивных линий, полученных в результате скрещивания *T. aestivum* сорт Фестивальная с *T. dicoccoides* и различающихся аллельным статусом гена *Gpc-B1*. Растения линий 15-7-1 и 13-3 содержат функциональные аллели гена *Gpc-B1,* а у растений линий 15-7-2 и 16-5 аллели гена нефункциональны. В ходе исследования обнаружено, что на ранних фазах развития растения с функциональным аллелем гена *Gpc-B1* (линии 15-7-1 и 13-3) более устойчивы к недостатку цинка в субстрате, о чем свидетельствует их более успешный рост в этих условиях, поддержание высокой активности фотосинтетического аппарата, а также сохранение необходимого уровня водного обмена. В отличие от этого у растений с нефункциональным аллелем гена *Gpc-B1* (линии 15-7-2 и 16-5) при недостатке цинка отмечено заметное снижение площади листьев, уменьшение содержания хлорофиллов, замедление скорости фотосинтеза и транспирации.

Несмотря на различия в устойчивости растений разных линий к недостатку цинка в субстрате, выявленные на ранних фазах развития, показатели их семенной продуктивности (длина и биомасса колоса, число зерен на колосе и урожай зерна с колоса) в контрольных и опытных вариантах оказались практически равными, причем независимо от аллельного статуса гена *Gpc-B1*. Однако содержание цинка в зерне оказалось гораздо более высоким у растений, имеющих функциональный аллель этого гена.

Известно, что транспорт цинка по растению осуществляется с участием транспортных белков. Нами во флаговых листьях растений изученных линий определено содержание транскриптов гена белка HMA2 (*heavy metal ATPase*), транспортирующего ионы цинка через плазмалемму в сосуды ксилемы и флоэмы. Выявлено, что для растений, содержащих функциональный аллель гена *Gpc-B1* (линии 15-7-1 и 13-3), характерен гораздо более высокий уровень транскриптов генов *TaHMA2*, чем у растений с его нефункциональным аллелем, причем как при оптимальном содержании цинка в субстрате, так и при его недостатке.

В целом, растения пшеницы, имеющие в составе генома функциональный аллель гена *Gpc-B1*, на ранних фазах развития более устойчивы к недостатку цинка в корнеобитаемой среде, чем растения с его нефункциональным аллелем (линии 15-7-2 и 16-5). Кроме того, они способны и при дефиците этого микроэлемента в субстрате формировать высокий урожай зерна с большим содержанием в нем цинка, что, отчасти, может быть связано с высоким уровнем экспрессии гена транспортного белка HMA2. Высказано предположение, что транскрипционный фактор NAC, кодируемый геном *Gpc-B1*, может участвовать в регуляции уровня экспрессии гена *TaHMA2*.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта БелРФФИ № 20-516-00016, БРФФИ (грант № Б20Р-240) и государственного задания FMEN-2022-0004.

Оценка влияния 30-минутного воздействия низкоинтенсивного электромагнитного поля различной частоты на компоненты редокс-метаболизма проростков гороха и пшеницы.

Кальясова Е.А., Синицына Ю.В., Ракова Ю.В., Кощеева В.М., Мшенская Н.С.

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, пр. Гагарина, 23, Нижний Новгород, Россия.
katelyn@bk.ru

Низкочастотное электромагнитное излучение резонанса Шумана с частотами около 8, 14 и 21 Гц – это вариант естественного электромагнитного поля (ЭМП), постоянно генерируемый между поверхностью Земли и ионосферой. С одной стороны, данное поле характеризуется низкими значениями магнитной индукции (единицы – десятки нанотесла), что позволяет сомневаться в его биологической значимости. С другой стороны, жизнь на Земле зародилась и эволюционировала при постоянном присутствии таких низкочастотных полей, поэтому живые организмы могли выработать механизмы восприятия возмущений электромагнитных полей с частотами резонанса Шумана. Кроме того, имеется довольно много сообщений о возможности восприятия живыми системами электромагнитных излучений низких частот и малых интенсивностей. Система генерации и утилизации свободнорадикальных соединений является одной из весьма чувствительных к действию внешних факторов компонентов редокс-метаболизма растений, сдвиги ее равновесия могут быть вызваны как повреждающими, так и относительно слабыми внешними факторами. В связи с этим, целью работы было исследование состояния процессов окисления мембран, активности важнейших антиоксидантных ферментов и липидного состава проростков гороха и пшеницы после кратковременного воздействия электромагнитного поля с частотами диапазона резонанса Шумана.

Исследования проводили на 14-дневных проростках гороха (*Pisum sativum* L.) сорта Альбумен и пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Злата. Растения культивировали в климатической камере при температуре +23□, режиме день/ночь 16/8ч, затем их делили на группы. Растения опытных групп подвергали однократной обработке переменным магнитным полем с частотой 7,8 или 14,3 или 20,8 Гц, интенсивностью 18 мкТл в течение 30 минут, растения контрольной группы выдерживались в условиях геомагнитного поля.

После обработки ЭМП в растениях спектрофотометрически определяли активность антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы, содержание малонового диальдегида (МДА) и спектр полярных липидов методом тонкослойной хроматографии, что позволило оценить работу антиоксидантных систем и состояние растительных мембран в целом.

В проростках гороха было показано отсутствие изменений как со стороны антиоксидантной системы (активность СОД и каталазы не отличались от контрольного уровня), так и со стороны процессов окисления мембран – уровень МДА не отличался от контрольного ни в одном из вариантов опыта.

В растениях пшеницы активность СОД не изменялась под действием ЭМП всех трех исследуемых частот, в то время как активность каталазы оставалась неизменной только после воздействия ЭМП с частотой 7,8 Гц, но увеличивалась на 62% и 21% относительно контроля после обработки ЭМП с частотой 14,3 и 20,8 Гц соответственно. Содержание МДА оставалось на контрольном уровне после воздействия ЭМП с частотами 7,8 и 14,3 Гц и уменьшалось на 5% относительно контроля после обработки ЭМП с частотой 20,8 Гц. Иными словами, в растениях пшеницы ЭМП с частотой 7,8 Гц не вызывало изменений исследуемых биохимических параметров, поле с частотой 14,3 Гц вызывало максимальную активацию каталазы при уровне липопероксидации соответствующем контрольному, а поле с частотой 20,8 Гц приводило к менее выраженному ответу ферментного компонента антиоксидантной системы, но уменьшало содержание МДА.

Липидный спектр растений гороха и пшеницы был схожим и оставался неизменным во всех экспериментальных группах при сравнении с контрольными. Были выявлены следующие фракции полярных липидов: фосфатидилэтаноламин, фосфатидная кислота, фосфатидилинозитол, фосфатидилсерин, фосфатидилхолин и сульфолипиды.

В целом, кратковременное 30-минутное воздействие электромагнитных полей с частотами 7,8 или 14,3 или 20,8 Гц не вызывало изменений исследуемых биохимических параметров проростков гороха, что может говорить как о низкой интенсивности внешнего воздействия, так и о достаточной устойчивости объекта исследования. Растения пшеницы показали большую чувствительность к исследуемым ЭМП, чем растения гороха, при этом характер ответа зависел от частоты поля – ЭМП с частотой 7,8 Гц не вызывало выраженных изменений определяемых параметров, ЭМП с частотой 14,3 Гц приводило к частичной активации компонентов антиоксидантной системы, а воздействие ЭМП с частотой 20,8 Гц на компоненты редокс-метаболизма проростков пшеницы носило комплексный характер – сопровождалось активацией каталазы и снижением уровня липопероксидации. Таким образом, растения способны воспринимать воздействие низкоинтенсивных элетромагнитных полей с частотами диапазона резонанса Шумана, но выраженность их ответа зависит от вида растения и интенсивности поля.

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

Влияние условий выращивания на физиологические параметры листьев *Chrysanthemum morifolium* Ramat.

Клемешова К.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр «Субтропический научный центр Российской академии наук». Яна Фабрициуса ул., 2/28, Сочи, Россия.
klemeshova_kv@mail.ru

В районе влажного субтропического климата в производственных масштабах возможно получать срез цветочной продукции *Chrysanthemum morifolium* Ramat. в открытом и защищённом грунтах, однако качество соцветий зависит от условий выращивания. Анализ некоторых физиологических параметров ассимиляционного аппарата позволил оценить степень влияния абиотических факторов на культивируемые растения. В опыте участвовали срезочные сорта *Ch. morifolium*, выращиваемые в открытом и закрытом грунтах отдела агротехники и питомниководства ФИЦ СНЦ РАН, село Раздольное города Сочи, в 2018–2021 гг. Одновременная фиксация абиотических параметров даёт оценку отличий физиологических показателей растений в различных условиях. Открытый грунт характеризуется более высокой относительной влажностью воздуха и освещённость (средние годовые значения в открытом грунте 61,3 % и 29619 лк, в закрытом – 59,3 % и 23536 лк), тогда как для защищённого грунта характерны большие температуры воздуха (средние значения в открытом и закрытом грунтах 18,7 °С и 20,3 °С, соответственно). Растениям открытого грунта свойственно большее содержание сухих веществ в листьях в среднем на 1,2 %, причём с наступлением периода массового цветения разница увеличивается до 1,9 %. На общем фоне выделяются сорта ‘Gagarin’, ‘Zembla White’, ‘Annecy White’, у которых данная разница существенна. У хризантем ‘Sevan’ и ‘Золотая Нива’ условия выращивания не влияют на накопление сухих веществ, а для ‘Zembla White’, ‘Gilbert Leigh Purple’ и ‘Gagarin’ характерно высокое их содержание во время массового цветения. Количество суммарных хлорофиллов в открытом грунте меньше и в период бутонизации, и массового цветения на 0,043 и 0,203 мг/г сырого веса, соответственно. Листья ‘Annecy White’ отличаются высоким содержанием зелёных пигментов по сравнению с другими хризантемами вне зависимости от условий выращивания, в среднем в 1,5 раза (2,769 ±0,394 мг/г сырого веса), низкое содержание пигментов характерно для листьев хризантем ‘Gagarin’ и ‘Sevan’ во время всего периода цветения (1,581 ±0,076 и 1,715 ±0,105 мг/г сырого веса, соответственно). Среднее содержание каротиноидов во время бутонизации в защищённом грунте меньше на 0,009 мг/г, в процессе формирования соцветий разница увеличивается до 0,010 мг/г сырого веса. Сорта ‘Sevan’ и ‘Annecy White’ содержат большее количество каротиноидов в тепличных условиях 0,328 ±0,011 и 0,517 ±0,010 мг/г, соответственно, в листьях ‘Annecy White’ количество жёлтых пигментов в среднем на 0,087 мг/г выше, чем у других хризантем. Вне зависимости от условий культивирования большим содержанием каротиноидов при меньшей лабильности зелёных пигментов отличаются ‘Gagarin’, ‘Gilbert Leigh Purple’ и ‘Tigerrag’. По изменениям параметров медленной индукции флуоресценции хлорофилла выделяются растения, выращиваемые в открытом грунте, у которых значения индекса жизнеспособности (Fm/F_T) и расчётного коэффициента фотосинтетической активности (Kf_T) выше. В процессе бутонизации разница в значениях составила 0,193 и 0,049 отн. ед., соответственно. Во время массового цветения различия становятся более существенными – 0,551 и 0,084 отн. ед., соответственно. В сортовом разрезе выделяются ‘Sevan’, ‘Золотая Нива’ и ‘Annecy White’, значения данных параметров которых в период бутонизации выше в условиях защищённого грунта, однако с началом массового цветения хризантем, показатели становятся выше в открытом грунте, как и у остальных сортов. Параллельно были посчитаны коэффициенты парной корреляции между физиологическими параметрами листьев *Ch. morifolium* и гидротермическими факторами окружающей среды. Так, прямые заметные связи отмечены между показателями «температура воздуха» – «содержание хлорофилла b» и «относительная влажность воздуха» – «индекс жизнеспособности» r = 0,66 и 0,68, соответственно; обратные – между «относительная влажность воздуха» – «содержание хлорофилла b» и «освещённость» – «фотосинтетическая активность» r = –0,65 и –0,54, соответственно. Высокая зависимость между «индекс жизнеспособности» – «температура воздуха» (r = –0,79) и «фотосинтетическая активность» – «относительная влажность воздуха» (r = 0,80), причём характер отношений различный. Обратная весьма высокая связь отмечается у показателей «температура воздуха» – «фотосинтетическая активность» (r = –0,91). В целом физиологические параметры листьев *Ch. morifolium* сортоспецифичны, а также могут служить мерой гибкости изучаемых сортов к различным условиям выращивания.

Эффективность предпосевной цианобактериальной инокуляции семян пшеницы для снижения токсического действия глифосата

***Коваль Е.В.*[*], *Огородникова С.Ю.*[**]**

[*] ФГБОУ ВО ГАУ Северного Зауралья, ул. Республики, 7, Тюмень, Россия;
[**] ИБ ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, ул. Коммунистическая, 28, Сыктывкар, Россия.
undina2-10@yandex.ru

Глифосат – один из самых востребованных на современном мировом рынке пестицидов препарат, однако он токсичен для растений и почвенных микроорганизмов. Поглощаясь листьями и перемещаясь в корни, он подавляет жизнедеятельность растений на длительный срок. В некоторых научных работах упоминается, что глифосат и продукты его неполной биодеградации могут долгое время сохраняться в почве и растительной продукции. Поэтому разработка методов снижения фитотоксичности загрязненных субстратов с использованием микробных культур очень актуальна.

Целью работы было изучить влияние предпосевной инокуляции семян цианобактерией *Nostoc paludosum* Kutz. на растения пшеницы, выращенные на загрязненной глифосатом среде.

Семена пшеницы сорта Ирень проращивали в течение недели в присутствии цианобактерий (ЦБ) и без них. В дальнейшем проростки пересаживали на раствор глифосата ($1 \cdot 10^{-4}$ моль/л), приготовленный на питательной среде Кнопа. Использованная в опытах концентрация глифосата ниже рекомендованной дозы для борьбы с сорными растениями. Опыты проводили на растениях пшеницы в фазу двух листьев. Оценивали интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в корнях и листьях растений, накопление хлорофиллов, веществ с антиоксидантными свойствами – аскорбиновой кислоты и антоцианов, а также показатели линейного роста проростков. Возраст культуры цианобактерий – 1,5 месяца, титр $6{,}5 \cdot 10^7$ кл./мл.

Глифосат оказывал токсическое действие на пшеницу. В листьях пшеницы, выращенной в присутствии глифосата, интенсивность процессов ПОЛ возрастала, что проявилось в накоплении малонового диальдегида (МДА) – одного из продуктов ПОЛ в 2.3 раза по сравнению с контролем. Содержание антоцианов и аскорбиновой кислоты – веществ-антиоксидантов, увеличивалось в листьях в 1.9 и 1.5 раза от уровня контроля соответственно. Повышенное накопление этих веществ свидетельствует об активации антиоксидантной защиты в растительных клетках и направлено на адаптацию растений к действию гербицида. Содержание пластидных пигментов, напротив, снижалось. Фитотоксический эффект глифосата отразился на росте пшеницы, длина корней была ниже контрольной на 30%, а побегов – на 10%.

Инокуляция семян ЦБ *N. paludosum* активировала процессы ПОЛ в листьях пшеницы, содержание МДА в них было выше в 1.2 раза, по сравнению с контролем. При этом, ЦБ обработка семян способствовала значительному снижению интенсивности процессов ПОЛ в корнях. Также отмечали протекторный эффект ЦБ инокуляции семян для растений, растущих в присутствии глифосата. Уровень МДА в листьях в этом варианте был близок к растениям контрольного варианта.

В условиях загрязнения среды выращивания глифосатом инокуляция семян *N. paludosum* способствовала накоплению антоцианов и аскорбиновой кислоты в листьях пшеницы, но в меньшей степени, чем в варианте без инокуляции. Выявлена тесная корреляция между содержанием МДА в листьях пшеницы и количеством аскорбиновой кислоты ($r = 0.87$). Это говорит о своевременной реакции и эффективной работе антиоксидантной системы на действие глифосата, как стресс фактора. Отмечен рост содержания хлорофиллов в листьях растений, которые были обработаны *N. paludosum*, по сравнению с растениями, которые выращивали на загрязненном глифосатом субстрате без инокуляции.

Цианобактерии оказывали ростстимулирующее действие на корни пшеницы, длина корней была в 1.3 раза больше, по сравнению с контрольными растениями. Редуцирования длины корней и побегов пшеницы, вызванного действием гербицида, удалось избежать с помощью обработки семян *N. paludosum*. Показатели роста в данном варианте не отличались от контрольных значений.

Таким образом, обработка семян цианобактерией *N. paludosum* оказывает фитопротекторное действие на растения пшеницы, выращенные в условиях загрязнения глифосатом. Цианобактериальная инокуляция семян снижает интенсивность процессов ПОЛ в листьях и корнях растений, вызывает рост количества хлорофиллов (а и б), стимулирует эффективность работы антиоксидантной системы. В результате биохимических перестроек в растительных клетках, направленных на повышение жизнеспособности растений в условиях загрязнения среды выращивания глифосатом, идет активация линейного роста. Все это указывает на перспективу использования ЦБ *N. paludosum* в составе биологических препаратов для повышения устойчивости растений, культивируемых на загрязненных глифосатом субстратах.

Роль гистидина в транспорте никеля и цинка у *Arabidopsis thaliana* и *Lepidium ruderale*

***Кожевникова А.Д.*[*], *Серегин И.В.*[*], *Схат Х.*[**]**

[*]Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева РАН. Ботаническая ул., 35, Москва, Россия;
[**]Свободный Университет, Амстердам, Нидерланды.
ecolab-ipp@yandex.ru

Устойчивость растений к металлам и способность к их накоплению определяются эффективностью механизмов детоксикации и транспорта металлов из корней в побеги, существенной составляющей которых является связывание металлов с лигандами, обладающими к ним высоким сродством. Важнейшим лигандом является свободный гистидин, который в качестве симпластического хелатора вовлечен в транспорт никеля (Ni) и цинка (Zn). Несмотря на то, что роль гистидина в транспорте металлов активно изучается главным образом в связи с механизмами гипераккумуляции, важно также понимать его возможный вклад в транспорт металлов у растений исключателей, которые составляют основную группу растений по численности видов и накапливают металлы преимущественно в корнях. С этой целью в настоящей работе изучено влияние предобработки L-гистидином на поглощение Ni и Zn, загрузку металлов в ксилему, а также их концентрацию в ксилемном соке у двух видов исключателей из семейства Brassicaceae: модельного растения *Arabidopsis thaliana* и широко распространенного рудерального вида *Lepidium ruderale*. Семена высевали на влажный вермикулит. Проращивание семян и эксперименты проводили в климатической камере (температура 20/15 ° C день / ночь; освещенность 250 мкмоль $м^{-2}$ $с^{-1}$ на уровне растений, 14 ч $д^{-1}$; относительная влажность 70%). Двухнедельные проростки переносили в 1-литровые полиэтиленовые сосуды на 0.5 N раствор Хогланда с добавлением 2 мМ pH-буфера MES. Значение pH было доведено до 5,5 с использованием KOH. Смену среды проводили еженедельно. Чтобы оценить влияние экзогенного L-гистидина на загрузку Ni и Zn в ксилему, семинедельные растения *A. thaliana* и *L. ruderale*, выращенные на 0.5 N растворе Хогланда в присутствии 2 мкМ Zn, помещали на 4 ч (с 13 до 17 часов) на 1 мМ раствор L-гистидина или L-аланина в 2-мМ буфере MES / KOH (pH 5,5). Деминерализованная вода с буфером MES / KOH (pH 5,5) использовалась в качестве контроля. После предобработки корневые системы промывали деминерализованной водой, и розетки листьев срезали бритвенным лезвием чуть ниже самого нижнего листа. Затем корневые системы переносили в свежий питательный раствор с добавлением 25 мкМ $Ni(NO_3)_2$ или $Zn(NO_3)_2$. Пасоку собирали в течение ночи в 2-мл эппендорфы, соединенные со стеблями с помощью силиконовых трубок. Экссудаты собирали в 11:00, измеряли их объем и анализировали содержание Ni или Zn с помощью атомно-абсорбционной спектрофотометрии. Определяли суммарное количество Ni или Zn в пасоке, содержание металлов в корневой системе, оценивали суммарное поглощение и загрузку Ni или Zn в сосуды ксилемы. Концентрация Ni в пасоке контрольных растений было выше у *A. thaliana* по сравнению с *L. ruderale*, в то время как для Zn прослеживалась обратная закономерность. Предобработка L-гистидином приводила к значительному увеличению концентрации Ni в ксилемном соке *L. ruderale* и Zn у *A. thaliana*, а также суммарного содержания соответствующих металлов в пасоке. Влияние L-гистидина на содержание Zn в ксилемном соке *L. ruderale* было менее значительным, отчасти за счет увеличения объема ксилемного сока у растений, предобработанных L-гистидином. В отличие от *L. ruderale*, увеличения концентрации Ni в пасоке *A. thaliana*, а также его суммарного содержания в пасоке после предобработки L-гистидином не наблюдалось, что не может быть связано с эффектом разбавления, так как объем пасоки не изменялся по сравнению с необработанными L-гистидином растениями *A. thaliana*. Наиболее существенное увеличение концентрации металла в пасоке после предобработки L-гистидином наблюдалось в случае Ni у растений *L. ruderale*. Уменьшения объема пасоки, а следовательно, и эффекта концентрирования не наблюдалось нами ни в одном из вариантов обработки. Эффективность загрузки Ni и Zn в сосуды ксилемы была существенно выше у *A. thaliana* по сравнению с *L. ruderale.* Предобработка L-гистидином существенно стимулировала загрузку Zn у обоих видов, тогда как загрузка Ni увеличивалась только у *L. ruderale.* В отличие от L-гистидина, предобработка растений L-аланином не приводила к увеличению содержания металлов в пасоке и увеличению их загрузки в сосуды ксилемы, что еще раз подтверждает, что наблюдаемый эффект свойственен только гистидину, а не является общим свойством аминокислот. Суммарное поглощение Ni и Zn у контрольных растений *A. thaliana* было более интенсивным, чем у *L. ruderale*. Для обоих видов суммарное поглощение Zn было более интенсивным по сравнению с Ni, что коррелирует с более высоким содержанием Zn в корнях. L-гистидин и L-аланин в большинстве случаев не влияли на поглощение металлов и на их содержание в корнях. Незначительное увеличение поглощения Zn и его содержания в корнях наблюдалось только у *A. thaliana* после предобработки L-аланином. Таким образом, L-гистидин может играть функциональную роль в транспорте Zn и Ni у *L. ruderale*, а также Zn у *A. thaliana*.

Исследования выполнены за счет средств Российского научного фонда (проект № 21-14-00028, https://rscf.ru/project/21-14-00028/).

Регуляция солеустойчивости *Solanum tuberosum* кратковременной предобработкой 24-эпибрассинолидом

Коломейчук Л.В., Ефимова М.В.

Национальный исследовательский Томский государственный университет, пр. Ленина, 36, Томск, Россия.
kolomeychuklv@mail.ru

По данным продовольственной и сельскохозяйственной организация ООН, засоленные почвы занимают в мире огромные площади — около 25 % всей поверхности суши. Повышенное содержание солей в почве или поливной воде оказывает губительное влияние на растения, которое в конечном итоге, приводит к уменьшению их продуктивности и пищевой ценности. Ключевую роль в повышении солеустойчивости растений играют факторы гормональной природы и, прежде всего, брассиностероиды. Среди преимуществ БС можно отметить их экологическую безопасность и способность вызывать биологические эффекты в крайне низких по сравнению с другими гормонами концентрациях.

Исследования проводили на растениях *Solanum tuberosum L.* среднеспелого сорта Луговской. Оздоровленные растения-регенеранты картофеля *in vitro* получали из апикальной меристемы и на протяжении 30 суток культивировали на агаризованной питательной среде Мурасиге и Скуга (МС). Корни растений отмывали от агаризованной среды и проводили недельную адаптацию микроклонов к жидкой половинной среде МС и условиям воздушной среды. После 2-х недельного роста на гидропонной установке в среде МС растения переносили на 4 часа на ту же самую среду в отсутствие (контрольный вариант) или в присутствии 10^{-10} М 24-эпибрассинолида (ЭБЛ). После четырехчасовой гормональной обработки растения переносили на 20 ч на среду МС без добавления брассиностероидов. В дальнейшем их помещали на питательную среду МС в отсутствие (контрольный вариант) или в присутствии 100 мМ NaCl (опытные варианты). Ответную реакцию растений на предобработку 24-эпибрассинолидом с последующим солевым стрессом оценивали по физиологическим параметрам в течение 6-ти суток солевого воздействия.

Уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ), вызванного стрессом, оценивали по содержанию ТБК-активных реагентов в листьях картофеля. Обработка растений NaCl приводила к увеличению содержания ТБК-активных реагентов со вторых суток воздействия и до конца эксперимента на 17–80%, относительно контроля; максимальный пик наблюдался на вторые сутки солевого воздействия. Предварительная обработка растений ЭБЛ способствовала снижению накопления ТБК-активных реагентов, вызванное NaCl, на 5-ые и 6-ые сутки эксперимента.

В ответ на повышение уровня окислительного стресса в растениях активизируется ферментативная антиоксидантная система. Было установлено, что в условиях солевого стресса наблюдается четкая тенденция к увеличению активности супероксиддисмутазы на протяжении всего эксперимента по сравнению с контролем; однако это увеличение было статистически значимым только на 1-е и с 4-ых по 6-ые сутки воздействия. В то же время, предварительная обработка растений ЭБЛ устранила этот эффект и, общая активность супероксиддисмутазы (СОД) у растений варианта с предобработкой не отличалась от аналогичной в контроле. И, напротив, активность пероксидазы (ПО) была сходной во всех вариантах, кроме варианта с предобработкой, где со 2-ых суток и до конца эксперимента наблюдалось многократное увеличение ферментативной активности. Максимальный пик активности ПО при этом был отмечен на 3-ьи сутки эксперимента, где активность ПО в варианте «ЭБЛ+NaCl» превышала контрольный уровень в 3.1 раза.

Ожидаемо, в условиях солевого стресса уровень содержания ионов Na значительно увеличился в 29 раз в листьях, в 73 раза в стеблях и 3.5 раза в корнях растений, относительно контроля. Предварительная обработка растений ЭБЛ в условиях стресса значительно снизила накопление Na приблизительно в 2 раза. Кроме того, избыточное засоление приводило к снижению содержания Mg, K и Ca в листьях на 30-40%, относительно контроля. Предобработка растений ЭБЛ частично восстанавливала данные показатели до уровня контрольных значений. Так же, солевой стресс способствовал увеличению содержания Ca на 23% в корнях растений, относительно контроля. Предварительная обработка растений ЭБЛ усиливала данный эффект повышая накопление Ca на 70%, относительно варианта «NaCl».

При адаптации растений к стрессу важная роль принадлежит совместимым осмолитам, обладающим свойствами химических шаперонов, таким как пролин. Засоление способствовало значительному повышению (в 2-11 раз), относительно контроля, уровня пролина, в течение всего эксперимента. Динамика накопления пролина в условиях предобработки растений ЭБЛ с последующим солевым стрессом была аналогичной с вариантом «NaCl», за исключением 6-ых суток эксперимента, где уровень пролина предобработанных растениях превышал солевой контроль в 2 раза.

Таким образом, было показано, что предварительная кратковременная обработка картофеля ЭБЛ способствует повышению устойчивости растений к действию отстроченного солевого стресса за счет повышения активности пероксидазы и более эффективного накопления пролина.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-34-90093.

Прохибитины Phb3 и Phb4 при действии абиотического стресса на растения *Arabidopsis thaliana*

Коротаева Н.Е., Бельков В.И., Тарасенко В.И., Грабельных О.И., Боровский Г.Б.

Сибирский Институт Физиологии и Биохимии Растений СО РАН, ул. Лермонтова 132, Иркутск, Россия.
knev73@mail.ru

Прохибитины (Phb) - белки мембран, которые выполняют предположительно структурные, сигнальные, антистрессовые и антиапоптотические функции. Phb клеток растений, животных и микроорганизмов присутствуют во внутренних мембранах митохондрий, ядерных мембранах и плазмалемме, у растений также во внутренней мембране хлоропластов и тонопласте. Экспрессия многих генов, которые значительно активируются абиотическими стрессами, изменяется при мутации гена phb3, что говорит в пользу регуляторной роли гена phb3 при ответе на стресс. Таким образом, изменение уровня экспрессии генов или содержания белков Phb может быть одним из факторов регуляции стрессового ответа. Целью данной работы было описание изменения содержания транскриптов и белков AtPhb3 и AtPhb4 в ответ на воздействие теплового шока (ТШ) и окислительного стресса (ОС), а также выявление значения этих белков для формирования стрессового ответа в условиях различной освещенности.

Закаливание растений арабидопсиса экотипа Коламбия при 35 и 45^0C позволяло предотвратить гибель в условиях последующего действия "жесткого" ТШ (50^0C), при этом закаливание при 45^0C оказалось более эффективным. После воздействия закаливающими температурами содержание белков Phb3 и Phb4 (Phb3/4) дозозависимо увеличивалось через 24 ч после окончания стрессового воздействия. Через 3 ч после обработки температурой 45^0C происходило значительное увеличение содержания транскриптов Phb3 и Phb4 и накопление прохибитинов в митохондриях. При действии ТШ на растения с измененной в большую или меньшую сторону экспрессией гена *AOX1a* уровень накопления белков Phb3/4 увеличивался гораздо сильнее, чем у растений экотипа Коламбия. Таким образом, при действии ТШ происходит накопление Phb3/4; уровень накопления Phb3/4 зависит от уровня экспрессии гена альтернативной оксидазы митохондрий.

При действии на арабидопсис пероксида водорода уровень накопления H_2O_2 и вызванный ОС рост содержания супероксидного аниона зависели от использованной дозы пероксида водорода. Наиболее интенсивное возрастание уровня этих АФК наблюдалось при воздействии в течение 1 ч дозой H_2O_2 4 мМ и в течение 24 ч дозой 40 мМ. При 2-х часовом действии накопление H_2O_2 оказалось не столь существенным. Через 1 ч и 24 ч действия ОС происходило снижение содержания Phb3/4, что говорит в пользу подавляющего влияния H_2O_2 на содержание Phb. При 2-х часовом действии H_2O_2 существенных изменений в содержании Phb3/4 не было обнаружено. Известно, что H_2O_2 ингибирует ростовые процессы, с которыми тесно связаны функции прохибитинов. Возможно, снижение содержания прохибитинов и подавление роста в результате действия H_2O_2 являются взаимосвязанными процессами.

Инактивация экспрессии гена AtPhb4 посредством инсерционного мутагенеза приводила к компенсаторному росту экспрессии гена AtPhb3 и стимулировала повышенное по сравнению с диким типом накопление Hsp101 и Hsp17,7 (II) в ответ на ТШ. Инактивация экспрессии гена AtPhb3 компенсаторно повышала экспрессию AtPhb4, также способствовала накоплению Hsp101 и Hsp17.7 в ответ на нагревание, но в гораздо меньшей степени. Выращивание растений с измененной экспрессией генов AtPhb4 и AtPhb3 при сниженном уровне освещенности отменяло эффект усиленного накопления стрессовых белков в трансгенных растениях после действия на них ТШ. Таким образом, ген Phb3 может играть более существенную роль для термоустойчивости, чем ген Phb4. Усиление накопления стрессовых белков в мутантах с измененной экспрессией генов Phb может зависеть от уровня освещения растений.

Судя по полученным результатам, гены Phb являются перспективным объектом для дальнейшего изучения возможностей с помощью изменения их экспрессии воздействовать на стрессоустойчивость растения, поскольку ТШ оказывает влияние на содержание транскриптов и белков Phb3/4, а изменение экспрессии генов AtPhb3 и AtPhb4 влияет на накопление стрессовых белков, являющихся важным фактором стрессоустойчивости. Также, полученные результаты говорят в пользу связи между содержанием Phb3 и Phb4 и развитием ОС в листьях арабидопсиса.

Адаптация галофитов к градиенту условий на побережье Белого моря

***Кособрюхов А.А.*[*], *Марковская Е.Ф.*[**], *Гуляева Е.Н.*[***], *Любимов В.Ю.*[*]**

[*] Институт фундаментальных проблем биологии, ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино, Московская обл., ул. Институтская 2;
[**] Институт биологии, экологии и агротехнологий, Петрозаводский государственный университет. Петрозаводск, проспект Ленина 33;
[***] Отдел комплексных научных исследований, ФИЦ Карельский научный центр РАН.
kosobr@rambler.ru

Проведено сравнительное изучение структурно-функциональных особенностей листьев триостренника морского (*Triglochin maritima* L.) и астры солончаковой (*Tripolium vulgare Ness*.), произрастающих в градиентных условиях побережья Белого моря. Показано, что в естественных условиях произрастания видов высокие значения скорости фотосинтеза, транспирации и проводимости устьиц имели листья растений, подвергающихся незначительному уровню (высота водного столба 5-7 см) и времени (15-30 мин) погружения под воду на верхней литорали, по сравнению с растениями на средней литорали при высоком уровне (70 см) и длительности (2-3 часа) затопления. Сразу после выхода из заливания, растения, наряду с использованием основного пути фиксации углекислоты через РБФК/О, включают ФЭП-карбоксилазный путь фиксации CO_2. В условиях пониженной концентрации углекислоты происходит снижение скорости реакции карбоксилирования РБФК/О и соотношение двух путей карбоксилирования смещено в сторону повышения активности ФЭП карбоксилазы. Фермент имеет более низкие значения Км, в качестве субстрата использует HCO_3 и, таким образом, получает преимущество в реакции ассимиляции углекислоты. Этому не препятствует возможное понижение температуры во время прилива, поскольку температурный оптимум цитоплазматической ФЕП-К C_3-растений на 10–15 градусов ниже, чем у C_4-растений. Определение активности ФЭП карбоксилазы, а также РБФК/О и проводимости устьиц потоку газов подтверждает данную гипотезу. Высказана гипотеза о существовании системной реакции организма в ответ на ритмику экологических факторов на приливно-отливной зоне. Это связано с высокой пластичностью галофитов на этой территории.

Влияние экологических факторов на водоудерживающую способность *Helianthus annuus L.*, выращенного в Донбасском регионе

***Косогова Т.М.*[*], *Попытченко Л.М.*[**], *Решетняк Н.В.*[**], *Тимошин Н.Н.*[**]**

[*] Луганский государственный педагогический университет, ул. Оборонная, 2, Луганск, ЛНР;
[**]Луганский государственный аграрный университет, городок ЛНАУ, 1, Луганск, ЛНР.
popytchenko@mail.ru

Известно, рост и развитие растений в экосистемах зависит от комплексного действия как природных экологических, так и техногенных экологических факторов, что следует учитывать специалистам агарного сектора экономики. По классификации Л.С. Берга Донбасский регион расположен в климатической зоне Степи. На эту территорию часто вторгается тропический и арктический воздух. Максимум солнечной радиации на территории Донбасса наблюдается в июле, минимум – в декабре. Поэтому минимальная продолжительность солнечного сияния отмечается в декабре и составляет 20-30 часов, а в июне и июле 280–320 часов, за период апрель-октябрь – 1684 часа. В процессе фотосинтеза растения используют фотосинтетическую активную радиацию (ФАР), которая составляет 50 % суммарной солнечной радиации. В Луганске самая большая сумма ФАР наблюдается в июне – 354 МДж/м^2. Годовая амплитуда температуры воздуха 26–28 °С, абсолютный минимум температуры – -37–40 °С, абсолютный максимум – +37+40°С. За год выпадает более 500 мм осадков, на юге ЛНР – более 600 мм. Большинство осадков выпадает за теплый период в виде проливных дождей. На фоне высокой температуры воздуха эта влага быстро улетучивается и очень часто для растений складываются засушливые условия почвы и в воздухе. Наиболее дождливым месяцем за год является июнь (57–83 мм), меньше осадков выпадает в марте-апреле (30–42 мм). В теплый период года в почву попадает примерно 20–30 % осадков, а при низком уровне агротехники еще меньше. Проблема изменения климата остро стоит перед сельским хозяйством, что объясняет необходимость уделять внимание адаптации агротехнологий выращивания сельскохозяйственных культур к погодным условиям текущего года. Известно, что к агрометеорологическим стратегиям адаптации земледелия и сельскохозяйственных культур относятся изменение структуры севооборотов, видовой состав выращиваемых культур, сроки проведения полевых работ в конкретной климатической зоне. К технологическим приемам адаптации относятся: системы земледелия, размещение полевых культур, структуры посевных площадей, сроки посева культур, оросительный режим культур, способы ухода за посевами полевых культур и другие. Нами ранее проведены исследования по использованию сортами и гибридами *Helianthus annuus L.*разных групп спелости биоклиматических ресурсов всех агроклиматических районов Донбасса. Выявлено, что в условиях потепления климата в Донбасском регионе рекомендуется сев семян подсолнечника более поздних групп спелости – среднеспелой и среднепоздней. Исследования проводили в полевом опыте Луганского государственного аграрного университета по изучению возможности сева культуры двух групп спелости – среднеспелой и среднепоздней при разных сроках сева. Выполнен опыт с предпосевной обработкой семян и последующей обработкой в фазу 4–5 листьев и начала цветения стимулятором роста «Нива». Представляло интерес изучить водоудерживающую способность (ВС) листьев гибридов Дон (среднеспелый) и Мелкий Блондин (среднепоздний) в условиях степных агроценозов. ВС листьев гибридов разных групп спелости, выращенных из семян, обработанных препаратом «Нива», определяли в фазе образования корзинки методом «завядания» по Арланду. Выявлено, что у подсолнечника (гибрид Дон), выращенного из семян, обработанных препаратом «Нива», потеря воды листьями в фазу образования корзинки на 6,0 % ниже по сравнению с контролем, такая же закономерность характерна и для среднепоздного гибрида Мелкий Блондин. Следует отметить увеличение оводненности листьев у растений подсолнечника всех изучаемых гибридов, обработанных препаратом «Нива». В засушливые периоды водоудерживающая способность (ВС) листьев повышается, особенно у засухоустойчивых и жароустойчивых сортов, что отражает изменения в метаболизме растений, усиление гидролитических процессов, накопление осмотически активных веществ (растворимые сахара, аминокислоты и др.) и рассматривается физиологами растений как адаптация. Уборку урожая осуществляли в фазе полной спелости семянок при стандартной влажности 7–8 %. Урожайность подсолнечника в вариантах с обработкой семян и листьев препаратом «Нива» выше, по сравнению с контролем (у гибридов Дон – на 3–4 ц/га, Мелкий Блондин – на 1,5-2,0 ц/га, Командор 777 – на 1,2 ц/га). В опыте по срокам сева культуры наиболее высокая урожайность получена при севе в первую декаду мая. Несколько ниже урожайность получена при севе в конце апреля, но уровень урожайности остается достаточно высоким – 23,0–26,0 ц/га. Наиболее низкая урожайность для всех гибридов получена при позднем сроке сева – первая декада июня. Поздние сроки сева применяются только в исключительных случаях: повышенной засоренности полей, пересеве озимых и наличии достаточной влаги в посевном слое почвы. Выяснили, урожайность повышается у растений (гибрид Командор 777), которые выращены из семян, сев которых осуществляли в направлении рядков с востока на запад.

Оксидоредуктазы в качестве биомаркеров устойчивости *Glycine max* и *Glycine soja* к действию тяжелых металлов

***Кузнецова В.А.*[*], *Голохваст К.С.*[*], *Блинова А.А.*[**], *Иваченко Л.Е.*[**]**

[*] Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, ул. Большая Морская, 42-44 г. Санкт-Петербург, Россия;
[**] Всероссийский научно-исследовательский институт сои, ул. Игнатьевское шоссе, 19, г. Благовещенск, Россия.
kuzvika3385@yandex.ru

В период онтогенеза соя подвергается действию различных факторов, в том числе влиянию тяжелых металлов, способствующих повышению содержания малонового диальдегида и развитию окислительного стресса в растениях. Антиоксидантными ферментами, участвующими в регуляции активных форм кислорода, являются оксидоредуктазы. Изменение структуры этого класса энзимов приводит к появлению новых множественных форм и соответственно новых признаков протекания адаптации к воздействию солей кадмия и свинца. В результате индукции стрессовых генов при окислительном стрессе появляются новые формы оксидоредуктаз, обладающие разной активностью, что показывает способность оксидоредуктаз к перестройке генома и свидетельствует об адаптивной реакции сои на окислительный стресс. Полученный высокий полиморфизм можно использовать для создания новых сортов сои, устойчивых к влиянию солей тяжелых металлов.

.

Анализ участия H^+, Ca^{2+} и H_2O_2 в изменении содержания фитогормонов при распространении электрических сигналов

Кузнецова Д.В., Ладейнова М.М., Печёрина А.А., Воденеев В.А.

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, пр. Гагарина, 23, Нижний Новгород, Россия.
kuznetsova.dar0@gmail.com

Растения имеют сложную скоординированную систему генерации и передачи стрессовых сигналов, которая обеспечивает ответ на действие изменяющихся факторов внешней среды. Локальный повреждающий фактор вызывает распространение электрического сигнала – вариабельного потенциала (ВП), а также приводит к изменению содержания фитогормонов. По литературным данным, генерация ВП связана со значительными изменениями концентраций ионов, что позволяет предположить, что изменение ионных концентраций при ВП может индуцировать изменение концентраций гормонов. Кроме того, имеется предположение, что пероксид водорода (H_2O_2) участвует в распространении ВП, и наряду с изменением ионных концентраций способен влиять на изменение содержания гормонов. Таким образом, целью работы явился анализ участия протонов, ионов кальция и пероксида водорода в изменении содержания фитогормонов при распространении электрических сигналов.

Исследования выполнялись на растениях пшеницы (*Triticum aestivum* L.) возрастом 15-19 дней. Генерацию ВП инициировали действием локального раздражителя, представляющего собой нагрев кончика листа. Регистрацию ВП проводили с использованием многоканальной макроэлектродной установки. При распространении ВП выполняли исследование динамики концентраций протонов, ионов кальция и пероксида водорода с помощью чувствительных флуоресцентных зондов BCECF, AM, Fluo-4, AM, Ampliflu Red, соответственно. Зонды загружали в растения с помощью вакуумной инфильтрации. Флуоресцентный имиджинг целого листа пшеницы проводили на установке поверхностного оптического имиджинга. Содержание фитогормонов определяли во фрагменте листа, удаленном от зоны воздействия. Анализ содержания жасмонатов, абсцизовой и салициловой кислот проводили методом жидкостной хроматомасс-спектрометрии. Для этого фрагмент листа пшеницы растирали в жидком азоте, гомогенизировали в 80% растворе метанола с 1% муравьиной кислоты, содержащем внутренние стандарты исследуемых веществ. Экстракцию проводили в два этапа по 15 минут при 4°C, далее центрифугировали при 20040 g, супернатант упаривали в 2 раза при 40°C на испарителе-концентраторе. Для ингибиторного анализа растения пшеницы подвергали вакуумной инфильтрации раствором 5 мМ $LaCl_3$ (блокатор кальциевых каналов) или 5 мМ Na_3VO_4 (ингибитор протонного насоса), приготовленные на искусственной прудовой воде (ИПВ). Контрольную группу инфильтрировали раствором ИПВ без ингибиторов. Искусственную индукцию гормональных сдвигов с помощью H_2O_2 проводили методом вакуумной инфильтрации раствора H_2O_2 на ИПВ, для контрольной группы применяли раствор ИПВ без H_2O_2.

Действие локального нагрева вызывает генерацию ВП и изменение содержания фитогормонов в растениях пшеницы. Максимальной концентрации после действия раздражителя такие стрессовые фитогормоны как жасмоновая кислота (ЖК) и абсцизовая кислота (АБК) достигают через 15 мин и 60 мин соответственно, салициловая кислота (СК) имеет максимум концентрации при 40 мин. Во время генерации ВП наблюдается временное увеличение внутриклеточной концентрации Ca^{2+}. В свою очередь, ингибирование кальциевых каналов приводит к снижению амплитуды ВП, а также оказывает влияние на параметры гормонального ответа. Происходит изменение сдвигов концентраций фитогормонов, вызванных действием локального раздражителя: $LaCl_3$ блокирует увеличение жасмонатов в точке 15 мин и СК в точке 60 мин. Генерация ВП сопровождается временным закислением цитоплазмы, которое вызвано угнетением работы протонного насоса, что подтверждают результаты ингибиторного анализа: при действии Na_3VO_4 уменьшается амплитуда волны pH и амплитуда ВП. Ингибирование протонной помпы влияет и на содержание фитогормонов: увеличивает содержание АБК и жасмонатов как в покое, так и при раздражении. При генерации ВП происходит временное повышение концентрации H_2O_2. Концентрационный анализ влияния искусственного добавления H_2O_2 на содержание фитогормонов показал статистически значимое увеличение концентрации СК при 5 мМ H_2O_2, действие H_2O_2 в концентрации 20 мМ оказывает еще более выраженный эффект по сравнению с контролем. Концентрация жасмонил-изолейцина увеличивается только при действии 10 мМ H_2O_2. На АБК не оказывало влияние искусственное увеличение концентрации H_2O_2. Анализ временной зависимости содержания гормонов при искусственной индукции с помощью 10 мМ H_2O_2 показал сходство динамики концентрации фитогормонов с таковой при действии локального раздражителя: СК и АБК достоверно возрастают через 45 мин после добавления H_2O_2, жасмонаты – через 15 мин.

Таким образом, ингибиторный анализ показал участие протонов и ионов кальция в вызываемом ВП сдвиге концентраций исследуемых стрессовых фитогормонов при действии локального раздражителя, также показано участие изменения концентрации пероксида водорода в данных процессах, что свидетельствует о возможном наличии связи между электрическими сигналами, изменением концентрации пероксида водорода, и гормональными сигналами.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 22-14-00388).

Изменение содержания жасмонатов, индуцированное электрическими сигналами, и фотосинтетической активности при действии локального стимула

Ладейнова М.М., Кузнецова Д.В., Мудрилов М.А., Березина Е. В., Печёрина А.А., Брилкина А. А., Воденеев В.А.

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, пр. Гагарина, 23, Нижний Новгород, Россия.
ladeynova.m@yandex.ru

Растения подвержены действию факторов окружающей среды, в том числе локального характера. Локальные стимулы вызывают раздражение отдельных зон растения, в то время как остальная незатронутая действием фактора часть растения получает сигнал о данном событии. В качестве дистанционного сигнала на действие локальных стрессовых факторов может выступать распространяющееся изменение электрического потенциала. Локальные повреждающие воздействия, кроме электрического сигнала (ЭС), вызывают изменение активности фотосинтетических процессов и влияют на содержание фитогормонов в нераздражённых частях растения. Процессы распространения ЭС и изменения активности фотосинтеза могут быть связаны через стрессовые фитогормоны, в частности, на эту роль предполагаются жасмонаты, так как они способны влиять на работу устьичного аппарата, тем самым изменяя интенсивность транспирации. Также необходимо понимать, каким образом ЭС могут влиять на изменение концентраций жасмонатов. Связь ЭС и гормонов может осуществляться за счёт влияния изменений ионных концентраций, которые сопровождают генерацию ЭС, на процессы синтеза фитогормонов. Таким образом, цель данной работы – исследовать изменения содержания жасмонатов и активности фотосинтетических процессов при распространении дистанционного электрического сигнала, индуцированного действием локального стимула, а также изучить механизмы регуляции изменений концентрации жасмонатов электрическими сигналами.

Эксперименты проводились на растениях пшеницы (*Triticum aestivum* L.) возрастом 15-19 дней. Генерацию ЭС индуцировали локальным нагревом кончика листа. Регистрацию ЭС проводили с использованием макроэлектродной установки. Исследование динамики ионных концентраций при распространении ЭС проводили с помощью чувствительных флуоресцентных зондов, которые загружали в растения с помощью вакуумной инфильтрации. Флуоресцентный имиджинг целого листа пшеницы проводили с помощью установки поверхностного оптического имиджинга. Содержание жасмонатов определяли в удалённом от зоны воздействия фрагменте листа пшеницы. Пробоподготовка растительных экстрактов включала фиксацию фрагментов жидким азотом, гомогенизацию в 80% растворе метанола с 1% муравьиной кислоты, два этапа экстракции на ротаторе по 15 минут при 4°C, центрифугирование при 20040 g, концентрирование супернатанта при 40°C на испарителе-концентраторе, фильтрацию через шприцевой фильтр. Количественный анализ жасмонатов осуществляли методом жидкостной хроматомасс-спектрометрии. Определение фотосинтетических параметров проводилось с использованием PAM-флуориметра. Для изучения механизмов регуляции концентраций жасмонатов использовали метод ингибиторного анализа ионных концентраций Ca^{2+} и H^{+}. Для этого растения пшеницы подвергали вакуумной инфильтрации раствором 5 мМ $LaCl_3$ (блокатор Ca^{2+}-каналов) или 5 мМ Na_3VO_4 (ингибитор H^{+}-АТФазы), приготовленные на искусственной прудовой воде (ИПВ). Контрольную группу инфильтрировали раствором ИПВ без ингибиторов.

Генерация ЭС происходит в первую минуту после действия локального стимула и сопровождается внутриклеточным временным снижением pH и увеличением концентрации Ca^{2+}. Далее развивается первая фаза снижения активности фотосинтеза, главным образом, вследствие закисления цитоплазмы из-за угнетения H^{+}-АТФазы, и длится около 10 мин. По окончании первой фазы инактивации фотосинтеза развивается вторая фаза фотосинтетического ответа и длится более получаса. Развитию второй фазы снижения активности фотосинтеза предшествует ЭС-индуцированное увеличение концентрации жасмонатов, которое начинает развиваться через 5 мин после действия стимула и достигает своего максимума через 10 – 20 мин. Роль ЭС в качестве индукторов изменения концентрации жасмонатов при действии локального стимула подтверждают результаты ингибиторного анализа. Показано, что при ингибировании H^{+}-АТФазы значительно увеличивается содержание жасмонатов как в покое, так и при раздражении, а при действии блокатора Ca^{2+}-каналов снижается амплитуда ЭС-индуцированного увеличения концентрации жасмонатов. Влияние изменения ионных концентраций на быстрый синтез жасмонатов может реализовываться через изменение активности ферментов биосинтетического пути и регуляцию доступности субстрата. Увеличение содержания жасмонатов, в свою очередь, может служить индуктором изменений второй длительной фазы активности фотосинтеза. Для выяснения механизмов такого потенциального влияния требуется дальнейшая расшифровка механизмов связи гормонов и фотосинтетического ответа на действие локального стимула.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 22-14-00388).

Оценка эффективности новых регуляторов роста класса мезоионных гетероциклических соединений для повышения термоустойчивости *Triticum aestivum* и *Zea mays*

Лукаткин А.С.*[*], Гурьянова А.С[*], Галкина А.А.[*], Калганова Н. В.[**], Черепанов И. А.[**], Моисеев С. К.[**]

[*] Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, Большевистская ул., 68, Саранск, Россия;
[**] Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН, ул. Вавилова, 28, Москва, Россия.
aslukatkin@yandex.ru

Глобальные процессы на Земле, как естественные, так и антропогенные, усложняют условия возделывания растений. Постоянно меняющийся климат приводит к возрастанию проблемы абиотического стресса для роста и развития растений, а рост населения усугубляет потребности производства сельскохозяйственных культур. Большое значение приобретает устойчивость растений к абиотическим стрессовым факторам, ведущим из которых являются неблагоприятные температуры (высокие и низкие). Температурный стресс значительно снижает продуктивность и качество сельскохозяйственных культур. Для уменьшения повреждающего действия неблагоприятных температур используют различные приемы, среди которых особое место занимает природные и синтетические регуляторы роста (РР).

В последние годы интенсивно создаются и изучаются новые синтетические препараты, обладающие рост-регулирующими и антистрессовыми свойствами. В Институте элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова разработан ряд соединений класса мезоионных гетероциклических соединений, которые являются донорами молекул оксида азота (NO) и генераторами супероксидного анион-радикала. Некоторые из этих соединений проявляют выраженное влияние на рост и развитие растений, выступая в качестве стимуляторов роста, гербицидов или антидотов гербицидов.

Цель исследования – определение потенциальной возможности и эффективности применения новых РР для снижения стрессового воздействия неблагоприятных температур на растения озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Московская 39 и кукурузы (*Zea mays* L.) гибридов Воронежский 158 СВ, РОСС 199 МВ и Каскад 166 АСВ

В первой серии опытов изучали рост-регулирующую активность девяти производных (SI-20-11, SI-20-08, SI-20-12, SI-20-01, SI-20-09, SI-19-05, SI-19-02, SI-18-09, SI-18-07), в концентрациях от 10^{-6} до 10^{-10} М/л. Семена, обработанные растворами препаратов, проращивали 7 суток в факторостатируемых условиях при температуре 24 ºС, освещенности люминесцентными лампами 2000 лк, фотопериоде 16/8 ч (день/ночь), после чего определяли всхожесть и длину осевых органов выросших растений. На основании данных этого скрининга были выбраны максимально стимулирующие рост препараты (в скобках указаны концентрации для пшеницы и кукурузы, соответственно): SI-20-11 (10^{-8} и 10^{-7} М/л), SI-20-08 (10^{-9} М/л и 10^{-7} М/л), SI-20-09 (10^{-7} М/л), SI-19-05 (10^{-7} М/л). Эти препараты были использованы в последующих сериях опытов, где анализировали влияние РР на состояние и уровень стресс-маркеров молодых растения пшеницы, выращенных в почвенной культуре (в тех же температурных и световых условиях) до возраста 14 суток, при действии неблагоприятных температур (пшеница – 2 ºС и 38 ºС, 18 ч; кукуруза – 3 ºС или 43 ºС, 24 ч).

По окончанию температурного воздействия проводили оценку состояния растений после перенесенного стресса визуально, по физиологическим характеристикам (состоянию клеточных мембран по утечке электролитов, фотосинтетического аппарата по параметрам флуоресценции хлорофилла), по состоянию антиоксидантной системы (общей антиоксидантной активности, активности ферментов супероксиддисмутазы, каталазы, пероксидаз), а также определяли окислительный статус по скорости генерации супероксидного анион-радикала, интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ) и содержания перекисей.

При анализе полученные данные по влиянию различных РР на физиологические и биохимические параметры растений при действии температурного стресса, получены весьма противоречивые, и зачастую разнонаправленные эффекты. Так, в вариантах с обработкой семян пшеницы препаратами SI-20-09 и SI-19-05 у растений не было заметно внешних симптомов повреждения, что указывает на обеспечение ими устойчивости к температурному стрессу. Обработка препаратами SI-20-11 и SI-20-01 такого эффекта не оказала, здесь, как и в водном контроле, наблюдали подсыхания краев и пожелтение листовых пластинок. Предпосевная обработка сиднониминовыми препаратами, как правило, приводила к снижению показателей окислительного стресса (интенсивности ПОЛ, содержания H_2O_2 и скорости генерации супероксидного радикала) при действии неблагоприятных температур. Также получены данные по ослаблению повреждающего действия температурных стрессоров, оцениваемого по выходу электролитов, параметрам флуоресценции хлорофилла, активности компонентов антиоксидантной системы растений. Наилучший эффект наблюдался при обработке препаратами SI-20-08 и SI-19-05.

Обработка семян кукурузы показала неодинаковую эффективность изученных препаратов для различных гибридов на фоне температурного стресса. Зачастую отмечалось увеличение прооксидантных маркеров (уровня супероксидного анион-радикала, перекисей, интенсивности ПОЛ). Антиоксидантная система растений кукурузы также проявляла неоднозначную реакцию на температурные стрессы на фоне обработки изучаемыми РР. Возможно, что реакция растений варьировала на фоне различных стрессоров.

Таким образом, обработка семян пшеницы и кукурузы некоторыми сиднониминовыми препаратами способствовала ослаблению тяжести окислительного стресса, вызванного неблагоприятными температурами.

Особенности генома, коррелирующие с однолетностью растения

Лунькова Н.Ф., Иванов В.Б.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Ботаническая ул., 35, Москва, Россия.
nina.lunkova@gmail.com

Изучение факторов, определяющих продолжительность жизненного цикла растений, имеет ключевое значение для понимания их продуктивности. До сих пор эти факторы мало изучены, но безусловно важную роль играют не только различия на генном уровне, но и различия в содержании ДНК и плоидности. В настоящее время нет ответа на вопрос о том, почему одни виды заканчивают жизненный цикл за сезон или даже часть его, а другим необходимо для этого несколько лет. В данной работе анализировали, в какой мере однолетность определяется важными особенностями генома – голоплоидным содержанием ДНК (C-value), числом хромосом и плоидностью. Впервые обнаруженное Беннеттом на небольшом числе видов возрастание содержания ДНК с увеличением минимальной продолжительности жизненного цикла в ряду эфемеры – однолетние – многолетние травы является одним из проявлений нуклеотипического эффекта. Термин нуклеотипический эффект обозначает влияние ядра на фенотип независимо от информационной составляющей ДНК. Впоследствии на большем числе видов эта закономерность была подтверждена. Однако не было изучено влияние плоидности на корреляцию содержания ДНК и минимальной продолжительности жизненного цикла. Благодаря появлению последнего выпуска Базы данных Ботанического сада Кью (Англия) стало возможным проанализировать новые закономерности. В указанной Базе данных собрана информация о голоплоидном содержании ДНК (количество ДНК, которое содержится в нереплицированном гаплоидном наборе хромосом), числе хромосом, плоидности и минимальной продолжительности жизненного цикла. Было проанализировано 5038 видов трав. При анализе процента однолетних видов от суммы однолетних и многолетних видов в зависимости от C-value для однодольных видов было показано четкое смещение максимального процента однолетних видов в сторону повышения голоплоидного содержания ДНК при увеличении плоидности. У двудольных пика процента однолетних видов не выявлено, и с увеличением плоидности характер распределения процента однолетних видов в зависимости от голоплоидного содержания ДНК практически не менялся. Это говорит об ослаблении нуклеотипического эффекта у однодольных, в отличие от двудольных, с увеличением плоидности. При анализе диплоидных видов выявлено, что с увеличением числа хромосом доля однолетних видов уменьшается, причем у однодольных гораздо более резко, чем у двудольных. Остается неясным, почему эти проявления различаются у однодольных и двудольных. Таким образом, проведенный анализ показывает, что однолетность коррелирует с особенностями генома и имеет значение не только величина C-value, но также плоидность и число хромосом.

Исследования выполнены в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 121040800153-1).

Ростингибирующее действие и распределение никеля у растений *Noccaea caerulescens* и *Microthlaspi perfoliatum*

Лыкова Т.Ю., Кожевникова А.Д., Серегин И.В.

Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева РАН. Ботаническая ул., 35, Москва, Россия.
renard.roux@mail.ru

В настоящее время известно более 700 видов растений гипераккумуляторов, способных к избирательному накоплению металлов в надземных органах. Растения гипераккумуляторы являются металлофитами – устойчивыми к металлам видами, способными выживать и размножаться на металлоносных почвах. Гипераккумулятор цинка, кадмия и никеля (Ni) *Noccaea caerulescens* является модельным видом для изучения феномена гипераккумуляции. Несмотря на то, что *Microthlaspi perfoliatum* не относится к гипераккумуляторам Ni, растения этого вида способны накапливать значительные количества этого металла. Поэтому принципиально важно провести сравнительный анализ устойчивости растений этих видов к Ni. С этой целью в настоящей работе оценивалось токсическое действие и распределение Ni у растений этих двух видов. Проращивание семян и эксперименты проводили в климатической камере (20°C/15°C день/ночь, 14-часовой световой день, влажность – 75%). Растения выращивали на 0,5 N раствора Хогланда в течение 8 недель в присутствии сульфата Ni в разных концентрациях [20 — 800 мкМ (*N. caerulescens*, популяция Wilwerwiltz) и 5 — 160 мкМ (*M. perfoliatum*)]. Проявление токсического действия Ni оценивали по ингибированию роста корня, изменению содержания воды, сухой и сырой биомассы корней и побегов, а также по изменению содержания фотосинтетических пигментов. Содержание хлорофиллов и каротиноидов в листьях растений обоих видов определяли с помощью спектрофотометрии по стандартной методике. Распределение Ni по тканям корня и побега оценивали гистохимическим методом с использованием металлохромного индикатора диметилглиоксима. Достоверное ингибирование роста корня у *N. caerulescens* наблюдалось при 400 мкМ Ni, тогда как у *M. perfoliatum* – уже при 160 мкМ Ni. Снижение сырой и сухой биомассы корней и побегов, а также содержания воды в обоих органах у *N. caerulescens* также прослеживалось начиная с 400 мкМ Ni в среде, тогда как у *M. perfoliatum* заметное уменьшение сырой и сухой биомассы корня наблюдалось начиная с 80 мкМ Ni, а биомассы побегов – даже при более низкой концентрации Ni в растворе. Снижение содержания фотосинтетических пигментов у *N. caerulescens* наблюдалось при концентрации Ni от 200 мкМ и выше, что сопровождалось признаками межжилкового хлороза. У *M. perfoliaum* уменьшение содержания пигментов отмечалось уже при 10-20 мкМ Ni и сопровождалось усилением хлороза и появлением некротических участков при увеличении концентрации металла в среде. Как у *N. caerulescens*, так и у *M. perfoliatum* Ni выявлялся главным образом в проводящих тканях, а также в клетках верхней и нижней эпидермы листьев. В мезофилле содержание Ni было существенно ниже. В корнях обоих видов Ni был обнаружен в клетках ризодермы, коры, тканях центрального цилиндра, а также в апикальных участках, с чем может быть связано ингибирование роста корня. Таким образом, растения популяции Wilwerwiltz гипераккумулятора *N. caerulescens* оказались более устойчивыми к Ni по сравнению с *M. perfoliatum*. Накопление Ni в покровной ткани листа можно рассматривать в качестве одного из механизмов детоксикации Ni, ограничивающего поступление Ni в клетки мезофилла и его влияние на фотосинтетический аппарат растений.

Исследования выполнены за счет средств Российского научного фонда (проект № 21-14-00028, https://rscf.ru/project/21-14-00028/).

Влияние кадмия на процессы в хлоропластах и некоторые защитные механизмы.

Лысенко Е.А., Клаус А.А., Карташов А.В., Кузнецов В.В.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Ботаническая ул., 35, Москва, Россия.
genlysenko@mail.ru

Фотосинтез является основой продуктивности растений. Кадмий – один из наиболее токсичных для растений тяжелых металлов. Фотосинтез является важной мишенью токсического действия кадмия. Кадмий является наиболее изучаемым тяжелым металлом, воздействующим на растения, поэтому известно, что Cd проникает в хлоропласты (для других неэссенциальных тяжелых металлов такая информация отсутствует). Мы впервые показали, что при поступлении *in vivo* Cd накапливается в основном (80%) в тилакоидах, где функционирует электрон-транспортная цепь фотосинтетического аппарата; в строме накапливается очень небольшое количество Cd. Молекулярные процессы в строме оказываются защищены от действия Cd, вследствие его слишком малого количества. Нами показано, что экспрессия генов в строме не изменяется в условиях стресса, индуцированного кадмием.

Процессы в электрон-транспортной цепи тилакоидов, напротив, ингибируются. Количественный анализ показал, что в тилакоидах количество Cd сопоставимо с количествами Cu, Zn и Mn, соответственно, мишенями конкурентного ингибирования кадмием могут быть белки пластоцианин, тилакоидные карбоангидразы и протеазы FtsH-типа и марганцевый кластер (Mn_4CaO_5) водоокисляющего комплекса ФС2. Мы обнаружили, что в условиях кадмий-индуцированного стресса основной пул Ca в хлоропластах перемещается в тилакоиды, что повышает содержание Ca в тилакоидах более чем в 10 раз. По-видимому, создание избытка Ca является механизмом защиты марганцевого кластера (Mn_4CaO_5) от замещения в нем Ca (некоторые данные указывают, что, возможно, и Mn).

Анализ активности ФС2 показал, что она ингибируется не на донорной стороне, где находится и функционирует марганцевый кластер, а на акцепторной стороне. Донорная сторона ФС2 остается защищенной. Традиционно считается, что ФС1 практически не ингибируется кадмием. Мы показали снижение активности ФС1 под действием Cd, которое не может быть сведено к ингибированию ФС2, как источнику электронов при линейном транспорте. ФС1 ингибируется на донорной стороне. Это может быть объяснено ингибированием Cu-содержащего белка пластоцианина, принимающего участие в транспорте электронов от акцепторной стороне ФС2 к донорной стороне ФС1. Описанные ингибирующие эффекты ФС2 и ФС1 специфичны для Cd; другие двухвалентные тяжелые металлы – Fe, Cu, Pb, Hg, Ba – не оказывают подобного действия.

Еще одним защитным механизмом может быть ограничение поступления Cd непосредственно в хлоропласты. Нами и другими исследователями показано, что в условиях *in vivo* в хлоропластах растений накапливается небольшое количество Cd. Хлоропласты, выделенные из растений, не поглощавших Cd (контрольных), в условиях *in vitro* поглощают много Cd. Хлоропласты, выделенные из растений, накопивших большое количество Cd, в условиях *in vitro* поглощают гораздо меньше Cd; суммарное накопление Cd (*in vivo* + *in vitro*) так же гораздо меньше, чем у «чистых» хлоропластов *in vitro*. По-видимому, в условиях воздействии Cd в хлоропластах индуцируется значительная перестройка транспорта катионов через энвелоп внутрь хлоропластов для того, чтобы ограничить поступление Cd в хлоропласты. Это так же является механизмом защиты фотосинтетического аппарата от Cd.

Исследования выполнены в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема №121040800153-1), а также поддержана грантом РНФ № 14-14-00584.

Фитохром-зависимая регуляция газообмена CO_2 и переключение между дыхательным и фотосинтетическим метаболизмом углерода в листьях пшеницы

Любимов В.Ю., Кособрюхов А.А.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, ул. Институтская 2, Пущино, Россия.
lvyu99@mail.ru

Целью исследования было изучение возможной регуляторной роли фитохрома в фотоассимиляции CO_2 и связанной с ней активности хлоропластных и цитоплазматических энерготрансформирующих ферментов. Для этого использовали 15-дневные проростки пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Растения выращивали на песке с раствором Кнопа при температуре 22/18°C под светодиодными лампами «Ферон» (16 ч, 200 мкмоль квантов $м^{-2}$ $с^{-1}$). Фитохром активировали светодиодами в красной области спектра (КС, $\lambda = 656$ нм, $\lambda_{1/2} = 26$ нм, I = 80 мкмоль квантов $м^{-2}$ $с^{-1}$) и инактивировали светодиодами в дальней красной области спектра (ДКС, $\lambda = 737$ нм, $\lambda_{1/2} = 30$ нм, I = 30 мкмоль квантов $м^{-2}$ $с^{-1}$). Измерения газообмена показали, что после облучения КС максимальная ассимиляция CO_2 (A_{max}) увеличилась в 2,7 раза по сравнению с растениями, адаптированными в темноте. В этих условиях темновое дыхание (R_d) снижалось, а отношение A_{max}/R_d увеличилось примерно в 4,6 раза. В активированном фитохромом состоянии активность хлоропластного ФГА-дегидрогеназного комплекса увеличивалась в 1,8-2,0 раза, а цитоплазматического снижалась на 40-50%. Облучение растений ДКС восстанавливало обе активности до контрольного уровня. Дозовая зависимость активности хлоропластного и цитоплазматического ФГА-дегидрогеназных комплексов показала увеличение первого с ростом КС до 17-20 кДж $м^{-2}$, а второго – снижение с увеличением КС только до 8-10 кДж $м^{-2}$. Фитохром-модулированное состояние ферментативных комплексов инактивировалось в течение 60 минут темновой экспозиции. Облучение дополнительным кратковременным красным светом (15 мин каждые 2 часа) в течение 10 дней приводило к увеличению сырой и сухой массы целых растений на 40-45%. Таким образом, полученные результаты можно интерпретировать как участие фитохрома В в переключении с преимущественно темнового дыхательного метаболизма на фотосинтетический, что сопровождается повышением скорости фотосинтеза и увеличением накопления биомассы растений.

Аэренхима на разных стадиях развития *Hordeum vulgare* в условиях гидропоники

Малыгин М.В., Киселёва И.С.

Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, ул. Куйбышева, 48, г. Екатеринбург, Россия.
astett8@gmail.com

В течение роста и развития у растений происходят возрастные изменения на уровне анатомии клеток и тканей, а также их функционирования. Данные изменения определяются не только генетической программой развития, но и условиями среды, к которым растения вынуждены приспосабливаться. Так, в условиях недостатка кислорода в субстрате, одним из адаптационных процессов является развитие аэренхимы в корнях растений. Аэренхима часто развивается у водных растений, которые в течение всего роста подвергаются недостатку кислорода, и такая аэренхима называется конститутивной. Тем не менее, аэренхима может образовываться у видов, которые в норме не страдают от недостатка кислорода. Такая аэренхима называется индуцируемой и замечена у многих культурных злаков. У *Hordeum vulgare* образование аэренхимы сопровождается лизисом клеток, в результате у данного вида образуется лизигенная аэренхима. Для лизигенной аэренхимы известны основные этапы её развития и функции, однако, формирование аэренхимы в течение онтогенеза растений изучено слабо.

Данная работа направлена на изучение развития аэренхимы в процессе развития семенных корней *H. vulgare* сорта Памяти Чепелева. Для этого растения *H. vulgare* от начала прорастания до 45 дня роста выращивались в гидропонных условиях (первые 7 дней в водопроводной воде, далее в смеси Хогланда без аэрирования). Каждые 5 дней в течение 45-дневного эксперимента случайным образом были отобраны 7 растений, у которых была измерена средняя длина семенного корня (см) для отбора 3 семенных корней при изучении анатомии. Далее каждый корень был разделён на 4 равные части (зоны 1-4: нумерация от апекса к основанию), в каждой из которых были сделаны поперечные срезы. На них измеряли площади стелы, коры, лакун при наличии, эпидермы и поперечного среза в целом (тыс. мм^2); доля площади лакун от площади стелы (%).

По данным эксперимента, рост семенных корней *H. vulgare* сорта Памяти Чепелева заканчивается на 25 день. Размеры анатомических структур увеличиваются от апекса к основанию, с возрастом уменьшая диаметр до 15 дня роста в зонах 1-3. В зоне 4 не замечено изменений в диаметре, так как в данной зоне клетки оставались одинаковыми до конца эксперимента. Также до окончания роста наблюдалось образование аэренхимальных лакун в зонах семенных корней 2-4 (доля лакун в коре от 1,5 до 7,5 %), их доля оставалась стабильной на уровне 5-6% в зонах 2 и 3 до конца эксперимента. В зоне 4 же к окончанию роста корней наблюдается значительное увеличение доли лакун в коре до 10-12%. В зоне 1 лакуны появляются после окончания роста на 35 день, а их доля возрастает на 40-45 дни роста растений. Вероятно, лакуны в данном случае необходимы не только для проведения кислорода, но и снижения затрат на функционирование семенных корней на их поздних стадиях развития, о чём свидетельствует увеличение доли лакун в зоне 1 и 4 после окончания роста корней.

В ходе работы было выяснено, что корни отличаются по своим анатомическим характеристикам в разных зонах. Также образование аэренхимальных лакун зависит не только от зоны корня, но и от возраста растений. Кроме того, отмечены возможные функции аэренхимы в семенных корнях.

Влияние круглосуточного освещения на фотосинтетическую активность растений сем. *Solaneceae*

Мамаев А.В., Икконен Е.Н., Шибаева Т.Г., Шерудило Е.Г., Титов А.Ф.

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

Выращивание растений в условиях круглосуточного освещения (КО) при относительно невысокой плотности потока фотонов потенциально считается одним из способов экономии ресурсов и повышения продуктивности растений. Томат, баклажан и сладкий перец являются высокорентабельными культурами и поэтому существуют потенциальные преимущества их выращивания с применением КО. Однако, имея экваториальное происхождение, томат и баклажан очень чувствительны к КО, и у них развиваются фотоповреждения листьев. Сладкий перец более устойчив к КО и видимых повреждений не происходит. Теоретически рассчитано, что выращивание томата в условиях КО должно давать прирост урожая на 26% по сравнению с 18 ч фотопериодом при условии создания «идеального, устойчивого к КО генотипа томата». На сегодняшний день нет однозначного понимания механизмов повреждения светочувствительных растений при их выращивании в условиях КО. В данной работе использована возможность изучить растения одного семейства (*Solanacea*), представители которого различаются по степени устойчивости к КО.

В работе исследовали влияние КО на параметры фотосинтетической активности растений баклажана (*Solanum melongena* L.), сладкого перца (*Capsicum annuum* L.) и томата (*Solanum lycopersicum* L.). Растения выращивали в камерах искусственного климата при 24 ч фотопериоде (КО) или при 16 ч фотопериоде (контроль). Интенсивность фотосинтеза (A_n), устьичную проводимость (g_s), содержание CO_2 в межклеточном (C_i) и окружающем пространстве (C_a), а также скорость темнового дыхания (R) измеряли с использованием портативной фотосинтетической системы HCM-1000 (Walz, Германия). Измерения выполняли последовательно при ФАР, равной 1200, 1000, 800, 300, 60, 40, 20, и 0 мкмоль/(м^2 с). Видимый квантовый выход фотосинтеза (α), световой компенсационный пункт (СКП), скорость фотосинтетического транспорта электронов (J), карбоксилазная (v_c) и оксигеназная (v_o) активность РБФК/О были определены расчетными методами.

При КО у растений всех исследованных видов характер световой зависимости фотосинтеза отличался от такового в контроле, что проявлялось в снижении скорости A_n и смещении величины светового насыщения фотосинтеза в диапазон более низких значений ФАР. При этом существенное влияние на A_n оказывала и продолжительность влияния КО. Снижение скорости A_n сопровождалось частичным закрытием устьиц, изменением содержания CO_2 в межклеточном пространстве и уменьшением величины видимого квантового выхода фотосинтеза. Для всех исследованных видов были характерны более высокие значения СКП в условиях КО по сравнению с контролем, и особенно сильно данная величина возрастала у томата. Карбоксилазная и оксигеназная активность РБФК/О, а также скорость фотосинтетического транспорта электронов были существенно ниже в условиях КО по сравнению с контролем, независимо от вида растений. Продолжительность фотопериода оказала существенное влияние на баланс между дыханием и фотосинтетической ассимиляцией CO_2 независимо от вида растений и от того, на свету или в темноте осуществлялся процесс дыхания. В течение начального периода (7 сут) экспозиции растений при КО соотношение R/A_n увеличивалось в 2 раза у баклажана и сладкого перца и в 2.5 раза у томата. Увеличение периода воздействия КО до 21 сут мало отразилось на данном соотношении, независимо от вида, что отражает отсутствие способности к восстановлению активности фотосинтетического аппарата в условиях КО, и, следовательно, к адаптации процесса фотосинтеза к этому фактору.

Соотношение R/A_n растений является важной характеристикой их углеродного баланса и, как правило, увеличивается при воздействии неблагоприятных факторов среды, коррелируя при этом со снижением скорости роста растений. Поскольку у всех исследованных видов КО процесс фотосинтеза ингибировало в большей степени, чем дыхание, это отразилось на смещении R/A_n в сторону увеличения потерь углерода. Существенное повышение соотношения R/A_n в условиях КО и выявленное смещение баланса углерода в сторону бóльших потерь может выступать в качестве фактора, лимитирующего рост и продуктивность у исследованных нами видов растений в условиях КО.

Работа выполнена в рамках государственного задания Карельского научного центра РАН (№ FMEN-2022-004) и при частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований в рамках научного проекта № 20-016-00033а. Исследования выполнены на научном оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук».

Влияние спектрального состава света на выход каучука и инулина при культивировании кок-сагыза

Мартиросян Л.Ю.[*,**], ***Мартиросян Ю.Ц.***[*,**], ***Кособрюхов А.А.***[**,***]

[*] ИБХФ РАН, Россия, Москва
[**] ФГБНУ ВНИИСБ, Россия, Москва
[***] Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Россия, Пущино
l_martynov@mail.ru
yumart@yandex.ru

Натуральный каучук – НК (*цис*- 1,4-полиизопрен) - незаменимый высокомолекулярный биополимер, является важным продуктом для производства многих различных резиновых и латексных изделий. Все возрастающий спрос на НК стимулирует поиск альтернативных источников получения латекса. Во многих странах вновь пытаются ввести в культуру каучуконосное растение – кок-сагыз (*Taraxacum kok-saghys* Rodin). Кроме каучука, в растениях кок-сагыза может быть использован латекс и инулин. С целью повышения содержания этих важнейших вторичных метаболитов необходимо исследовать факторы, влияющие на направленность метаболических реакций, рост и развитие растений кок-сагыза при действии раздичных факторов внешней среды. Для синтеза каучукового мономера, растения используют путь мевалоната (MVA) и путь метилэритрита (MEP) в разных компартментах (цитозоль и пластида соответственно). Первые ферменты в обоих путях используют промежуточные продукты, полученные из метаболизма сахара через центральный метаболизм, в качестве субстратов (пируват и глицеральдегид-3-фосфат или ацетил-КоА для путей MEP и MVA соответственно; в цитоплазматическом пути MVA основным субстратом является цитозольный ацетил-КоА (полученный либо из сахарозы, либо из глюкозы и фруктозы). На сегодняшний день нами проводится разработка технологии круглогодичного выращивания кок-сагыза в условиях фитотрона, с использованием аэропонного метода выращивания растений. Проведена оценка накопления глюкозы и сахарозы, а также каучука и инулина в растениях, выращиваемых в условиях различного спектрального состава света, что может быть использовано для регулирования скорости метаболических процессов и увеличения выхода конечных продуктов. Проведен анализ ростовых и фотосинтетических процессов растений Облучение растений в области фотосинтетически активной радиации (ФАР), с преобладанием синей части его спектра, приводило к повышению скорости фотосинтеза и активности фотосистемы два. При облучении растений с большей долей красной составляющей спектра отмечено большее накопление биомассы при меньшей активности фотосинтетического аппарата. Оценены динамические изменения активности фотосинтетического аппарата по параметрам скорости фотосинтеза и флуоресценции хлорофилла *a* при измерении спектрального режима облучения растений.

Характеристика корневой системы на засухоустойчивость яровых синтетиков пшениц

***Масимгазиева А.С.*[*], *Абугалиева А.И.*[*], *Моргунов А.И*[**]**

[*] Казахский научно-исследовательский институт земледелия и растениеводства, Алмалыбак, Казахстан;
[**] ОмГАУ, Омск, Россия.
miss.masimgazieva@mail.ru

В условиях глобального потепления одной из ключевых проблем сельскохозяйственной экологии республики становится поиск новых подходов в повышении устойчивости пшеницы к засухе. Большие перспективы открываются при использовании гермоплазмы диких сородичей для достижения высокой засухоустойчивости и других хозяйственно*ценных свойств пшеницы и последующий селекционный отбор наиболее ценных генотипов. Оригинальность предлагаемого подхода к повышению засухоустойчивости пшеницы заключается в привлечении диких видов, которые под влиянием естественного отбора имеют природную устойчивость к экологическим стрессам, в частности к действию положительных температур, недостатку влаги, что в комплексе приводит к засухе. Сама «природа» сформировала высокую адаптивность диких сородичей пшеницы к засухе.

В качестве объектов для поиска засухоустойчивой гермоплазмы избраны 1) линии пшенично-чужеродных гибридов яровой пшеницы как переходной «мост» и отдельный объект селекции; 2) виды *T.dicoccum*, *T.militinae, T.timopheev* и *T.kihara;* 3) сорта-стандарты яровой пшеницы *T.eastivum*. Полевые эксперименты проводились на стационарах КазНИИЗиР (Алматы), Казахстан; СИММИТ-Турция-Анкара, Измир.

Характеристика корневой системы с использованием WinRHIZO осуществлена по нескольким параметрам.

Наиболее мощной корневой системой с максимальной степенью проанализированных признаков выделяется генотип 6625 х *T.timopheevi*; Казахстанская 10 х *T.zhykovskyi* и 6625 х *T.timopheevi*-3, а также дикие виды *T.militinae* и *T.kiharae*.

Корни *T.militinae* отличались максимальной длиной, площадью объемом корневой системы, крупным диаметром, массой количеством концов. Корни *T.kiharae* выделялись также длиной, площадью и разветвленностью системы. Казахстана 10 х T.*zhykovskyi* и 6625 х *T.timopheevi*-3 не выделялись только по диаметру, т.е относительно тонкие. Корни генотипа Казахстанская 10 х *T.dicoccum* отличались максимальной толщиной корни, объемом и массой свежих корней. Корни генотипа Казахстанская 10 х *T.zhykovskyi* выделялись по всем показателям кроме диаметра и количества концов. Номер 6625 х *T.timopheevi*-2 близкий по происхождению к линиям 6625 х *T.timopheevi*-3 и 6625 х *T.timopheevi* (с) был с ними схож только по 4 признакам, не достигая максимального по признакам: длина, средний диаметр; количество концов, разветвлений, и масса свежих корней.

Таким образом максимально развитая корневая система характерна для генотипов: 6625 х *T.timopheevi* (с); 6625 х *T.timopheevi*-3 и Казахстанская 10 х *T.zhykovskyi* и двух видов *T.militinae* и *T.kiharae.*

Анализ токсических и сигнальных реакций Ni^{2+} и комплексов Ni^{2+}-гистидин в корнях высших растений

Мацкевич В.С.*[*], *Серегин И.В.* [**], *Кожевникова А.Д.* [**], *Мин Ю.*[***], *Хуанг Ш.*[***], *Смолич И.И.*[*], *Соколик А.И.* [*], *Демидчик В.В.*[*,]**

[*] Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, Минск, Беларусь;
[**] Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Ботаническая ул., 35, Москва, Россия;
[***] Международный исследовательский центр по экологической мембранной биологии, Департамент сельского хозяйства, Университет Фошаня, Китай.
dzemidchyk@bsu.by

Избыток Ni^{2+} в среде (свыше 100 мг/г) является токсичным для большинства растений. В ответ на повышение уровня никеля многие растения синтезируют и экскретируют лиганды-хелаторы, такие как гистидин (Гис), связывающие Ni^{2+}. С одной стороны, это приводит к выведению Ni^{2+} из почвенного раствора, с другой – приводит к накоплению редокс-активных комплексов Ni-гистидин вблизи плазматической мембраны. В настоящей работе тестировалась гипотеза, согласно которой формирование комплексов Ni-гистидин вызывает активацию систем редокс- и Ca^{2+}-сигнализации, способствуя распознаванию избытка Ni^{2+} в среде. Целью настоящего исследования являлось установление роли взаимодействия Ni^{2+} и Гис в индукции токсических и сигнальных реакций в корне высших растений в условиях никелевого стресса. В опытах с регистрацией прорастания модельных растений *Arabidopsis thaliana* L. Heynh. на среде с никелем было показано, что данный тяжелый металл ингибирует формирование и рост корневой системы начиная с концентрации 10 мкМ, в тестовой системе с заменой среды – с 30 мкМ, в гидропонике – с 3 мкМ. В последнем случае при выращивании растений в среде с 0,1-1 мМ Ni^{2+} также регистрировалось снижение биомассы корней и надземной части. Добавление Гис, в соотношении 2 Гис / 1 Ni^{2+}, значительно понижало токсичность Ni^{2+}. Интересно отметить, что Гис стимулировал аккумуляцию никеля в корнях арабидопсиса при инкубировании на фоне 0,3 мМ Ni^{2+} в условиях гидропоники, однако тормозил транслокацию данного металла в листья. При помощи ЭПР-спектроскопии и спиновой ловушки 5,5-диметил-1-пирролин-N-оксидом (ДМПО) было показано, что 0,01-3 мМ Ni^{2+} не вызывает формирования гидроксильных радикалов в стандартных биологических условиях в присутствие 1 мМ L-аскорбата и 1 мМ H_2O_2. В то же время, введение никеля на фоне Гис вызывало мощный синтез гидроксильных радикалов. Аналогичный эффект был продемонстрирован в тестах с флуоресцентным зондом дигидроэтидиум (ДГЭ). Даже концентрация 3 мМ Ni^{2+} (летальный уровень) не вызывала генерацию АФК в корне. При этом введение Ni^{2+} на фоне Гис активировало продукцию АФК, которая достигала максимума на 30 мин. Добавление антиоксидантов (диметилсульфоксида) снижало накопление АФК под действием Ni^{2+}-$Гис_2$. Люминометрический тест (Ca^{2+}/экворин) показал, что добавление 0,01-3 мМ Ni^{2+} к корням арабидопсиса не вызывало изменений $[Ca^{2+}]_{цит.}$, однако его введение на фоне Гис индуцировало значительный Ca^{2+}-сигнал. Таким образом, избыток никеля в присутствие Гис распознавался системой Ca^{2+}-сигнализации растительной клетки. С использованием комплекса молекулярных и физиологических подходов выявлены гены-мишени Ni^{2+}-$Гис_2$ в клетке, такие как редокс-чувствительный K^+-канал GORK, глутатион-редуктаза GR1, Ca^{2+}-зависимая протеинкиназа CPK6 и др. Также были проведены опыты с сельскохозяйственными видами. Они продемонстрировали высокую чувствительность к никелю корневой системы пшеницы и подсолнечника и низкую чувствительность гороха (данный вид рос до 10 мМ Ni^{2+} в среде). Вероятно, это связано с высокой важностью уреазы (никель-содержащий фермент) для бобовых растений.

Работа была выполнена в рамках задания ГПНИ «Исследование функционального взаимодействия сигнально-регуляторных и антиоксидантных систем при стрессе с целью повышения общей стрессоустойчивости высших растений и создания новых биотехнологий» (№ госрегистрации 20211222), подпрограммы «Молекулярные и клеточные биотехнологии-2» государственной программы научных исследований «Биотехнологии-2» на 2021–2025 годы.

Протеомный анализ роли малых сигнальных пептидов RALF34 в регуляции развития корневой системы огурца (*Cucumis sativus*)

Машкина В.В.*[*], *Шумилина Ю.С.*[*], *Ильина Е.Л.*[**], *Кирюшкин А.С.*[**], *Фролов А.А.*[*,], *Демченко К.Н.*[**]**

[*] Санкт-Петербургский государственный университет, Кафедра Биохимии, Средний пр., 41, Санкт-Петербург, Россия;
[**] Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, ул. Профессора Попова, 2, Санкт-Петербург, Россия;
[***] Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Ботаническая ул., 35, Москва, Россия.
valeria.mashkina14@yandex.ru

Пептидная сигнализация играет значительную роль в жизни растений, участвуя в химической защите от травоядных и насекомых, развитии азотофиксирующего клубенька, препятствует самоопылению, регулирует клеточную пролиферацию и другие аспекты жизни растений. Недавние исследования показали, что малый сигнальный пептид RAPID ALKALINIZATION FACTOR 34 (RALF34) у Arabidopsis действует на транскрипционный каскад, приводящий к инициации бокового корня. По общей схеме пептиды семейства RALF/RALFL индуцируют быстрое подщелачивание среды, связываясь с своей рецепторной киназой, которая в свою очередь ингибирует работу H+-АТФазы. В настоящее время считается, что ортологи RALF34 выполняют подобные функции и у других растений. Например, для огурца (*Cucumis sativus*), представителя важного в сельскохозяйственном отношении семейства *Cucurbitaceae*, был идентифицирован ортолог CsRALF34. С целью выяснения функциональной роли малого сигнального пептида RALF34 в меристеме родительского корня огурца и его роли в инициации боковых корней, нами изучены изменения протеома огурца при сверхэкспрессией гена *CsRALF34*. Были получены композитные растения с трансгенными корневыми системами несущими конструкцию для сверхэкспрессии *CsRALF34* (*p35S::CsRALF34-TermAct*), а также контрольные корни несущие *p35S-GUS-TermAct* (вектор содержал ген β-глюкуронидазы, который в растительных организмах не встречается). Из контрольных и экспериментальных образцов был выделен общий белок, концентрация которого определялась методом с использованием бицинхониновой кислоты (BCA). Затем проводилось протеолитическое расщепление белка трипсином, а его полнота была подтверждена при помощи диск-электрофореза в денатурирующих условиях. Триптические гидролизаты были обессолены в ходе твердофазной экстракции и проанализированы методом обратнофазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии, сопряженной с тандемной квадруполь-времяпролетной хромато-масс-спектрометрией (RP-HPLC-QqTOF-MS/MS). Масс-спектрометрические данные были обработаны с помощью программного обеспечения Proteome Discover 2.1 с использованием поисковой машины SEQUEST в базе последовательностей белков *Cucumis sativus,* сконструированной нашей группой. Количественный анализ был основан на безметочном подходе (label-free quantification) с использованием программного обеспечения Progenesis QI. На основе полученных данных были выявлены количественные различия в уровне содержания белков между контрольными образцами и образцами, характеризующимися сверхэкспрессией гена *CsRALFL34* и проведен детальный анализ наблюдаемой динамики экспрессии белков. Нами впервые показаны группы белков, вовлеченные в сигнальный каскад регулируемый RALF34 в корнях растений. В докладе обсуждается роль RALF34 в регуляции ростовых процессов в меристеме корня и вклад в инициацию бокового корня.

Влияние режима увлажнения на рост, структуру фитомассы и функциональное состояние сеянцев лесообразующих видов

Мигалина С.В.*[*,**], *Ронжина Д.А.*[*,**], *Иванов Л.А.*[*,**], *Юдина П.К.*[*,**], *Тумуржав Ш.*[**], *Оплетаев А.С.*[**,], *Иванова Л.А.*[*,**]

[*] Ботанический сад Уральского отделения РАН, ул. 8 Марта, 202а, г. Екатеринбург, Россия;
[**] Тюменский государственный университет, ул. Володарского, 6, г. Тюмень, Россия;
[***] Уральский государственный лесотехнический университет, ул. Сибирский тракт, 37, г. Екатеринбург, Россия.
Fterry@mail.ru

Создание лесных культур вносит существенный вклад в решение проблемы сохранения и восстановления лесного фонда. Выращивание посадочного материала с закрытой корневой системой может значительно повысить эффективность искусственного лесовозобновления, однако применение данной технологии имеет определенные ограничения. Сеянцы первого года жизни, используемые в качестве посадочного материала, представляют собой критическую стадию развития деревьев, и в условиях абиотических стрессов их гибель может превышать 90%. Целью наших исследований было определить функциональную реакцию сеянцев, выращенных методом закрытых корневых систем (ЗКС), на разные режимы почвенного увлажнения.

У сеянцев *Pinus sylvestris* L., *Larix sibirica* и *Picea obovata* Ledeb. в возрасте 10 недель оценивались функциональные параметры листа и распределение биомассы. В эксперименте использовались разные способы полива: верхний, традиционно применяемый при выращивании растений, и нижний, при котором вода поступает в почву снизу, минуя крону сеянцев.

Полученные результаты показали, что у всех видов основные параметры газообмена (максимальная интенсивность фотосинтеза, проводимость мезофилла, интенсивность транспирации и эффективность использования воды) не зависели от способа увлажнения, за исключением *Picea obovata*, у которой отмечено увеличение эффективности использования воды в варианте с нижним поливом. При этом виды не различались по средним значениям этих показателей.

При анализе ростовых параметров обнаружено, что у сеянцев *Pinus sylvestris* и *Picea obovata* при нижнем поливе увеличивалась высота ствола. Диаметр ствола и диаметр корневой шейки были наиболее стабильными для всех видов. Мы также не обнаружили изменений в размерах хвои, сухой массе единицы площади хвои, относительной массе хвои, и в отношении суммарной площади хвои к общей массе растения.

Способ полива не влиял и на абсолютные показатели фитомассы сеянцев. Общей закономерностью для видов было наиболее высокое распределение биомассы во фракцию хвои, доля которой во всех вариантах опыта составляла в среднем 58-63%. Вместе с тем, найдены изменения в распределении биомассы по органам растения. У всех исследованных видов в варианте с нижним поливом отмечена более низкая относительная масса корней. Доля корней в общей массе растения при верхнем поливе у *Pinus sylvestris* и *Larix sibirica* составляла около 23 %, а у *Picea obovata* – 29,5%, тогда как при нижнем поливе она уменьшалась до 19,5% и 23,6%, соответственно. Уменьшение дорогостоящих энергетических инвестиций в развитие корневой системы может быть благоприятным для роста растений в первый год жизни, так как позволяет интенсифицировать развитие надземных органов. Косвенно такое распределение биомассы может указывать на более благоприятный режим почвенного увлажнения при нижнем поливе.

Исходя из полученных результатов можно сделать вывод о том, что исследованные виды характеризуются сходной функциональной реакцией на изменение режима увлажнения субстрата, которая проявляется в поддержании высокой фотосинтетической активности и преимущественном распределении биомассы в ассимилирующие органы и ствол. В этой связи использование нижнего полива может иметь перспективы для оптимизации выращивания сеянцев по технологии закрытых корневых систем. С другой стороны, в случае возникновения неблагоприятных условий уменьшение корневой массы может иметь негативные последствия для приживаемости растений.

Работа выполнена в рамках бюджетной темы Ботанического сада УрО РАН; проекта Министерства науки и высшего образования РФ FEWZ-2020-0009.

Световой стресс у лишайников: повреждение и фотозащита

***Минибаева Ф.В.*[*], *Beckett R.P.*[**]**

[*] Казанский институт биохимии и биофизики – обособленное структурное подразделение Федерального исследовательского центра "Казанский научный центр Российской академии наук", 420111, г. Казань, а/я 261;
[**] School of Life Sciences, University of KwaZulu-Natal, Private Bag X01, Scottsville 3209, South Africa.
minibayeva@kibb.knc.ru

Лишайники представляют собой симбиотические организмы, состоящие из гриба (микобионта) и либо водоросли, либо цианобактерии (фотобионта). Их размер варьирует от крошечных корок до висячих форм, которые свисают более чем на два метра с ветвей деревьев. Лихенизация - один из самых успешных способов, которые используют грибы для удовлетворения своей потребности в углеводах, около 20% всех грибов лихенизированы. В мире насчитывается 13 500 видов лишайников, но лихенизация почти полностью ограничивается Ascomycota. Лишайники часто растут в местах, где они подвергаются серьезным абиотическим стрессам, таким как обезвоживание, экстремальные температуры и высокая интенсивность света. В их естественной среде обитания интенсивность света, испытываемая лишайниками, часто превышает ту, которую их фотобионты могут использовать для выработки АТФ и НАДФН. Избыток поглощаемой энергии неизбежно приводит к образованию активных форм кислорода (АФК). АФК могут атаковать фотосинтетический аппарат, вызывая фотоингибирование и фотоокислительный стресс, повреждая активность ФСII и снижая способность фотобионтов фиксировать углерод. Устойчивость к избыточному освещению может быть достигнута, во-первых, за счет снижения образования или детоксикации образовавшихся АФК. Кроме того, важным элементом защиты фотобионта лишайников является термическое рассеивание поглощенной избыточной световой энергии. Это рассеивание происходит различными способами, которые в совокупности называются нефотохимическим тушением, или non-photochemical quenching (NPQ). В рамках «цикла репарации ФСII» может осуществляться репарация белка D1, ключевого, но чувствительного компонента фотосистемы II. Кроме того, микобионты лишайников реагируют на световой стресс синтезом фотопротекторных вторичных метаболитов, в том числе высокомолекулярных темных пигментов меланинов. Изучение физико-химических характеристик и анализ активности стрессовых генов позволяет нам предположить, что меланины играют важную роль в повышении устойчивости лишайников к воздействию неблагоприятного освещения. Помимо произрастания на открытых светлых местообитаниях, некоторые лишайники являются так называемыми «теневыми» видами, например те, что растут на стволах деревьев. Теневые лишайники часто подвергаются воздействию быстро меняющихся уровней освещенности, зависящих от суточных колебаний угла падения солнечного света, строения деревьев и движений ветвей деревьев. Лишайники в таких местах обитания испытывают быстро меняющиеся уровни излучения; относительно короткие периоды, когда лишайники подвергаются воздействию высоких уровней света в виде солнечных бликов. Наши результаты показывают, что основное различие между солнечными и теневыми видами лишайников заключается в том, что теневые виды демонстрируют гораздо более быстрое падение, или «релаксацию», NPQ в конце периода освещения. Мы предполагаем, что это позволяет их фотобионтам эффективно использовать более низкие уровни света, возникающие после исчезновения солнечного блика. Даже внутри одного вида теневые популяции лишайника демонстрируют более быструю релаксацию NPQ, чем те, которые произрастают на более открытых местообитаниях. Недавние исследования на сельскохозяйственных культурах показали, что быстрая релаксация NPQ может способствовать повышению урожайности. Важно, что фотобионты лишайников обладают более высокой стрессовой устойчивостью, чем свободноживущие водоросли или цианобактерии. Лишайники - симбиотические организмы, и их фотобионты, вероятно, обладают уникальными адаптациями к сильному световому стрессу.

Работа выполнена в рамках выполнения государственного задания ФИЦ КазНЦ РАН, а также при финансовой поддержке Российского научного фонда (№ 18-14-00198-П).

Влияние обработки плазмой барьерного разряда семян *Brassica juncea* (L.) Czern. на их посевные качества и рост проростков

Минич А.С., Минич И.Б., Чурсина Н.Л., Васильев С.Е., Финичёва А.А.

Томский государственный педагогический университет, ул. Киевская, 60, Томск, Россия.
minich@tspu.edu.ru

Обработка семян плазмой барьерного разряда может улучшать их посевные качества, интенсифицировать ростовые процессы и повышать продуктивность растений за счет модификации поверхности семян. При этом происходит увеличение поглощения воды семенами, активируется расходование запасов семени, меняется гормональная и ферментативная активность. Однако изменение посевных качеств семян и ростовых параметров растений определяются параметрами плазмы, длительностью обработки семян и их видовой спецификой. Нами исследовалось влияния предпосевной обработки семян плазмой в воздушной среде на посевные качества семян *Brassica juncea* 'Бутербродная' и рост проростков. Семена обрабатывались в плазмохимическом реакторе с планарным расположением электродов и одним диэлектрическим барьером из стеклотекстолита толщиной 2 мм. Площадь высоковольтного электрода – 48 см^2, величина разрядного промежутка – 2 мм, амплитуда высоковольтных импульсов напряжения – 8 кВ, частота повторения – 2 кГц. Рассчитанная активная мощность плазмы барьерного разряда соответствовала ~7 Вт. Разрядный промежуток между электродами объёмом 9,6 см3 служил для закладки семян. Во всех экспериментах расход воздуха на входе в реактор составлял ~ 200 мл/мин, температура реактора была постоянной и равнялась 25 ºС. Продолжительность обработки семян составляла 5, 10, 15 и 25 с (опыт), контролем служили необработанные плазмой семена и проростки, выращиваемые из них.

Семена проращивались в светокультуре до 7 суток под лампами ДНАЗ-150 с интенсивностью светового потока 150 Вт/м^2 и фотопериодом 12 ч при 28°С и влажностью воздуха 50%. За результат анализа лабораторной всхожести и энергии прорастания семян принимались среднеарифметические значения данных анализа четырех проб по 100 семян в каждой при допустимом расхождении результатов, указанных в ГОСТ 12038-84. Семена помещались в чашки Петри, выстланные тремя слоями увлажненной дистиллированной водой фильтровальной бумаги, и проращивались.

Для определения сырой и сухой биомассы проростки вынимались из почвы, корни промывались водой, лишняя влага удалялась фильтровальной бумагой. Для измерения массы сухого вещества растения высушивались в сушильном шкафу при 103 ºС до постоянного веса. Взвешивание проводилось на электронных аналитических весах Acculab ALC-210d4 (Acculab, USA). Площадь поверхности листьев проростков определяли с использованием программы «AreaS» (Самарская государственная сельскохозяйственная академия, Россия), работа которой основана на сканировании исследуемой фигуры и шаблона с известной площадью, их сравнением с последующим расчетом площади исследуемой фигуры (погрешность составляет не более 0.001%). Оценка достоверности результатов исследований проводилась при уровне надежности 95 % (уровень значимости – 0.05). На рисунках и в таблице приведены средние арифметические значения с двухсторонним доверительным интервалом из трех независимых экспериментов, каждый из которых проведен в трех биологических повторностях на 100 растениях.

Результаты исследований показали, что у контрольных и опытных семян горчицы одновременно происходило появление главного корня и раскрытие семенной кожуры. Относительно контроля энергия прорастания и лабораторная всхожесть семян горчицы, обработанных в течение 5, 10, 25 с была ниже на 6%, 12%, 10% соответственно. У семян, обработанных в течение 15 с, отметили большую на 6% энергию прорастания и большую на 13% лабораторную всхожесть.

Длина корня у проростков, семена которых обрабатывались плазмой в течение 10, 15, 25 с, была больше на 20%, 40% и 30% соответственно по сравнению с контролем, а длина гипокотиля – больше на 30%, 50% и 40% соответственно. У всех проростков на 7 сутки образовались два семядольных листа и зачатки первых настоящих листьев. Однако число зачаточных настоящих листьев у проростков, семена которых обрабатывались плазмой в течение 10, 15, 25 с, было больше на 20%, 30% и 20% соответственно по сравнению с контролем. Это привело к увеличению площади ассимилирующей поверхности данных проростков горчицы на 60%, 130% и 50% соответственно. Вследствие этого сырая биомасса побега данных проростков была больше на 30%, 60% и 30%, сырая масса корня проростков – больше на 40%, 40% и 30% соответственно. Эти показатели, коррелировали с показателями массы сухого вещества побега и корня. Сухая биомасса проростков, выращенных из семян, образованных плазмой в течение 10 и 15 и 25 с, была на 30%, 50% и 20% больше по сравнению с контрольными проростками, а сухая масса корня проростков – соответственно больше на 50%, 70% и 50%.

Таким образом, предпосевная обработка семян *Brassica juncea* ´Бутербродная´ плазмой барьерного разряда в течение 10, 15 и 25 с способствует активации ростовых процессов проростков. Максимальные положительные изменения ростовых процессов выявлены у проростков, выращиваемых из семян, обработанных плазмой в течение 15 с. Данная продолжительность обработки семян плазмой, возможно, является наиболее оптимальной, на что указывает улучшение их посевных качеств. У таких семян, вероятно, наиболее интенсивно происходит проникновение влаги внутрь семени, а это способствует активации как запуску процессов прорастания семян, так и запуску процессов метаболизма и подготовки клеток к растяжению.

Жирнокислотный состав фракций суммарных липидов почек растений рода *Betula* L. по фазам распускания

***Морозова И.В.*[*], *Чернобровкина Н.П.*[**], *Робонен Е.В.*[**], *Цыдендамбаев В.Д.*[***], *Пчёлкин В.П.*[***]**

[*] Институт водных проблем Севера – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук», пр. Александра Невского, 50, Петрозаводск, Россия;
[**] Институт леса – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук», ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Россия;
[***] Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Ботаническая ул., 35, Москва, Россия.
irinamorozova1502@gmail.com

Проведено исследование жирнокислотного состава (ЖКС) фракций суммарных липидов (СЛ) вегетативных почек у растений рода *Betula* L. по фазам их распускания: I фаза – набухание (почки заметно увеличивались в размерах, конец апреля); II фаза – разверзание (в верхней части почек появлялся конус молодых листьев, начало мая); III фаза – раскрытие вегетативных почек (молодые листья сложены в трубочку, вторая декада мая); IV фаза – молодые листья размером до 10 мм (обособление молодых листьев, поверхность листьев складчатая, видны черешки, третья декада мая). В условиях южной Карелии были отобраны 30-летние растения рода *Betula* L. с характерными морфологическими признаками: березы пушистой (*Betula pubescens* Ehrh) – дерево с прямым стройным стволом, высотой 10–12 м, имеющим плотную крону с распростертыми вверх ветвями, ауксибласты красновато-бурого цвета, покрытые густым опушением, листья с ярко выраженным опушением; березы повислой (*Betula pendula* Roth) – дерево с прямым стройным стволом, высотой 13–15 м, ажурной кроной и свисающими вниз ветвями, однолетние побеги красновато-бурые со смолистыми железками – “бородавками”, поверхность листа – матовая; карельской березы (*Betula pendula* Roth *var. carelica* (Mercklin) Hämet-Ahti) – прямоствольное дерево, высотой 5–7 м, с характерными вздутиями, неровностями и бугорчатыми выпуклостями на стволе, и высокой степенью узорчатости текстуры древесины. Для исследований использовали по три растения с типичными для двух видов и подвида морфологическими признаками. Экстракцию СЛ из тканей почек берез проводили смесью хлороформ:метанол (2:1). Разделение на фракции проводили колоночной хроматографией путём последовательного использования хлороформа, ацетона и метанола, с помощью которых извлекали нейтральные липиды (НЛ), гликолипиды (ГЛ) и фосфолипиды (ФЛ). Состав жирных кислот (ЖК) СЛ исследовали в виде их метиловых эфиров, полученных переэтерификацией липидов метанолом с участием ацетилхлорида. Разделение смеси этих эфиров на компоненты осуществляли на капиллярной колонке Zebron ZB-FFAP (50 м × 0.32 мм) газового хроматографа “Хроматэк–Кристалл 5000.1” (Йошкар-Ола, Россия).

Установлено, что качественный ЖКС фракций СЛ распускающихся почек деревьев с морфологическими признаками березы пушистой, березы повислой и карельской березы представлен преимущественно ненасыщенными ЖК (ННЖК) (до 88% от суммы ЖК). Основную долю ННЖК составляли линоленовая (С18:3) и линолевая (С18:2) (до 55 и 47% от суммы ЖК соответственно). Среди этерифицированных насыщенных ЖК (НЖК) количественно преобладала пальмитиновая (до 42%). При развитии почек у всех трех берез во всех фракциях СЛ относительное содержание линолевой ЖК понижалось при одновременном повышении относительной доли линоленовой ЖК в составе фракций ГЛ и ФЛ.

У березы пушистой, в отличие от березы повислой и карельской березы, отмечен высокий уровень суммы НЖК во фракциях НЛ и ГЛ, преимущественно связанный с высоким относительным содержанием пальмитиновой ЖК (кроме III фазы). Березу пушистую отличало также пониженное содержание линолевой и олеиновой ЖК при повышенном уровне пальмитиновой и стеариновой ЖК кислот во фракции ГЛ в I и II фазы распускания почек. У березы повислой, в отличие от других берез, происходило значительное снижение уровня линолевой ЖК при повышении пальмитиновой в составе фракции ГЛ в процессе развития почек от I к III фазе и понижение уровня линолевой во фракции ФЛ. Карельскую березу характеризовало повышенное содержание ННЖК во фракции НЛ почек по фазам распускания, обусловленное высоким относительным содержанием линолевой ЖК при низком уровне пальмитиновой. Разнонаправленные векторы изменения уровней линолевой и линоленовой ЖК (понижение и повышение соответственно) в мембранных липидах распускающихся почек березы обеспечивают формирование фотоассимиляционного аппарата и устойчивость к стрессовым факторам среды. Характер изменения состава мембранных липидов распускающихся почек у исследуемых видов рода *Betula* L. – возрастание содержания фосфолипидов и линоленовой ЖК в процессе распускания почек – аналогичен показанному ранее для ряда хвойных. Изучение механизмов стрессоустойчивости у древесных растений необходимо для теоретического обоснования интенсивных технологий выращивания хозяйственно ценных видов.

Механизмы генерации электрических сигналов при действии локальных раздражителей различной природы в проростках пшеницы

Мудрилов М.А., Ветрова Я.А., Воденеев В.А.

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, пр. Гагарина, 23, Нижний Новгород, Россия.
mtengri@yandex.ru

На сегодняшний день не вызывает сомнений, что растениями имеют широкий спектр механизмов, обеспечивающих им устойчивость к постоянно меняющимся условиям окружающей среды и многочисленным внешним стимулам. Одним из важнейших компонент формирования подобной адаптации являются дистанционные сигналы, способные передавать информацию о стимулах по всему организму для своевременного физиологического ответа. Одним из таких сигналов, способным обеспечить подобную регуляцию, может являться вариабельный потенциал (ВП), генерируемый в ответ на разнообразные раздражители, чьи параметры, такие как вероятность возникновения, амплитуда и скорость распространения, проявляют определенную зависимость от типа раздражителя. Однако механизмы, обеспечивающие стимул-специфичность параметров ВП, неизвестны. Целью работы является определение механизмов, обуславливающих специфичность ВП при действии раздражителей различной природы.

Исследование проводилось на 14-21-дневных растениях пшеницы (*Triticum aestivum* L.). В качестве стимулов использовались ожог кончика листа открытым пламенем в течение 3 с и постепенный нагрев кончика листа до 60°С в кювете с водой. Для изучения особенностей механизмов генерации и распространения электрических сигналов, индуцированных различными стимулами, выполнялся ингибиторный анализ с применением специфичных блокаторов. Использовались растворы следующих ингибиторов: 1) 2 мМ Na_3VO_4 – специфичного ингибитора H^+-АТФаз плазматических мембран; 2) 5 мМ $LaCl_3$ – блокатора Ca^{2+}-каналов; 3) 10 мМ $GdCl_3$ – блокатора механочувствительных Ca^{2+}-каналов; 4) 1 мМ N,N'-диметилтиомочевины (DMTU) – скевенджера пероксида водорода (H_2O_2); 5) 20 мкМ дифениленйодония (DPI) – специфичного ингибитора НАДФН- оксидазы. Вследствие плохого проникновения ингибиторов через эпидермис пшеницы, нами был разработан метод их загрузки в отсеченный второй взрослый лист, путем погружения отсеченного участка в раствор с ингибиторами и дальнейшей загрузки в лист под вакуумом. Электрическую активность регистрировали внеклеточно с помощью Ag/AgCl-макроэлектродов ЭВЛ-1М3, усилителя иономера ИПЛ-113, соединенного с компьютером. Контакт электродов с растением осуществлялся через хлопковые нити, вымоченные в стандартном растворе искусственной прудовой воды (ИПВ). Отсеченный второй лист пшеницы располагали на специально изготовленных подставках из пластика. В экспериментах использовались 3 измерительных электрода, расстояния до которых от места стимуляции составляло 3, 6 и 9 см.

Na_3VO_4 вызывал практически полное подавление ВП как в случае ожога, так и нагрева, более чем на 90%, а фаза деполяризации практически отсутствовала, ее скорость составляла 0,016 и 0,007 мВ/с для нагрева и ожога соответственно. Это указывает на в целом сопоставимый вклад H^+-АТФазы плазмалеммы в генерацию ВП для обоих стимулов. Добавление $LaCl_3$ также приводило к снижению амплитуды ВП (A_{VP}) для обоих стимулов, до 30-40% от контроля. Также нарушалось формирование фазы деполяризации, но в меньшей степени, чем в случае Na_3VO_4, около 0,044 мВ/с и для обоих стимулов. Таким образом, роль Ca^{2+} может заключаться в регуляции активности H^+-АТФазы. Подавление ВП $GdCl_3$ фиксировалось для обоих типов раздражителей, однако, наибольший эффект был показан в случае ожога, вызывая снижение A_{VP} более чем на 50% по сравнению с контролем на всех участках, причем степень подавления возрастала при удалении от зоны раздражения, достигая на расстоянии в 9 см 85%, в отличие от нагрева. Скорость деполяризации в случае нагрева также была выше, 0,114 мВ/с против 0,105 мВ/с при ожоге. Это указывают на большую роль механочувствительных Ca^{2+}-каналов в генерации ВП при ожоге, в сравнении с нагревом. При использовании диметилтиомочевины (DMTU) было продемонстрировано снижение A_{VP} для обоих типов раздражителей, что может указывать на участие АФК в индукции ВП для обоих раздражителей. В случае нагрева наблюдается большее подавлении ВП при распространении, на расстоянии в 6 см от места стимуляции – около 80% при нагреве против 65% при ожоге. Также об этом может говорить более медленная фаза деполяризации при нагреве, всего 0,043 мВ/с, тогда как в случае ожога она составляет 0,086 мВ/с. Действие DPI приводит к достоверному снижению A_{VP} лишь в случае нагрева, тогда как при нагреве эффект имел место на всех расстояниях. Также можно отметить большее замедление скорости деполяризации в случае нагрева, по сравнению с ожогом, 0,152 мВ/с против 0,238 мВ/с. Таким образом, можно говорить о большем вкладе НАДФН-оксидазы в распространении ВП при нагреве.

В целом, можно выделить следующие основные особенности механизмов генерации и распространения ВП, индуцированных ожогом и постепенным нагревом. В случае ожога основную роль при сравнении с нагревом в распространении ВП играет гидравлическая волна, воспринимаемая через натяжение плазматической мембраны механочувствительными Ca^{2+}-каналами, а при нагреве основную роль по сравнению с ожогом играет волна АФК, возникающая при повреждении, и которую воспринимают АФК-чувствительные Ca^{2+}-каналы. Наблюдаемое в случае нагрева меньшее затухание ВП, вероятно, может быть связано с продукцией АФК НАДФН-оксидазами. В самой генерации ВП основную роль играют H^+-АТФазы, деактивируемые входом Ca^{2+} в клетку.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 22-14-00388).

Влияние 24-эпибрассинолида на функционирование фотосистемы II при последующем хлоридном засолении

Мурган О.К., Сушкова Д. В., Ефимова М.В.

Национальный исследовательский Томский государственный университет, пр. Ленина, 36, Томск, Россия.
reborn_rinni@mail.ru

Согласно докладу A. Evans в FAO (Food and Agriculture Organization, Продовольственная и сельскохозяйственная организация ООН) при текущей скорости роста населения к 2050 году численность людей на планете превысит 9 миллиардов, что значительно обострит проблему голода. В связи с возможным продовольственным кризисом необходимо увеличить производство продуктов питания не менее чем на 70 %. Однако по разным причинам, площадь земель, доступных для сельского хозяйства, сокращается. Возможными причинами могут быть как глобальные – изменение климата, так и локальные – нарушение режимов орошения и использование воды низкого качества, приводящие к засолению пахотных земель. Сельскохозяйственным культурам, произрастающим на засолённых территориях, свойственно снижение продуктивности, что, в свою очередь, приводит к серьёзным экономическим потерям. Одним из способов защиты растений от избыточной концентрации солей может быть обработка их брассиностероидами, обладающими рядом преимуществ перед другими гормонами. Данные соединения хорошо себя зарекомендовали как регуляторы роста и устойчивости растений. Известно, что физиологический эффект брассиностероидов характеризуется высокой степенью вариабельности и зависит от химической структуры гормона, его концентрации, продолжительности воздействия и способа обработки растения. Исследование направлено на изучение механизмов длительного воздействия брассиностероидов, в частности 24-эпибрассинолида (ЭБЛ), на микроклоны картофеля с последующим хлоридным засолением.

Картофель (*Solanum tuberosum* L.) является четвёртой по урожайности сельскохозяйственной культурой, и вторым по значимости продуктом растениеводства в Российской Федерации. Однако доля семенного картофеля, получаемого внутри страны, составляет около 10%, что свидетельствует о необходимости получения новых сортов и исследования уже имеющихся, для улучшения их морфофизиологических характеристик и устойчивости.

Культивирование микрочеренков *in vitro* осуществляли на модифицированной агаризованной питательной среде Мурасиге и Скуга (МС) (pH = 5.8) с добавлением витаминов (тиамин, пиридоксин и никотиновая кислота – 1 мг/л), сахарозы (25 мг/л) для контрольных растений и с добавлением 10 или 1000 нМ 24-эпибрассинолида в экспериментальных вариантах. Продолжительность выращивания на данном этапе составляла 21 сутки. Затем растения адаптировали к жидкой среде ½ МС и атмосфере фитокамеры в течение 2 недель. После адаптации растения помещались в условия засоления, с добавлением к ½ жидкой МС 0, 75 или 150 мМ NaCl. Через пять суток оценивали содержание фотосинтетических пигментов и параметры фотохимической активности фотосистемы II (ФС II) на PAM-флуориметре (PAM-Mini, “Heinz-Walz”, Germany).

Хлоридное засоление в концентрации 150 мМ NaCl способствовало снижению параметров фотохимического квантового выхода (Y(II)) и относительной скорости транспорта электронов (ETR) на 12-14%, не зависимо от наличия фитогормона в питательной среде на этапе роста растений в условии *in vitro*. При этом значение параметра нефотохимического тушения (NPQ) при засолении увеличивалось на 57% в ответ на действие 75 мМ, и в 2.2 раза – при 150 мМ. Длительное воздействие 10 нМ ЭБЛ способствовало восстановлению данного параметра – на 37% при последующем негативном действии 75 мМ NaCl и на 30% при 150 мМ; высокая концентрация 24-эпибрассинолида (1000 нМ) восстанавливала параметра нефотохимического тушения до 120% от контроля для двух вариантов засоления. Пигментный состав является одним из важных показателей функционирования фотосинтеза. Содержание пигментов оценивали по методу Lichtenthaler. При хлоридном засолении отмечено снижение количества хлорофилла *a* и каротиноидов на 9–12% для 75 мМ и на 20–23% для 150, при этом уровень хлорофилла *b* не изменялся. Длительное воздействие 10 нМ ЭБЛ стимулировало незначительный протекторный эффект для хлорофилла *a* и каротиноидов, в то время как, более высокая концентрация фитогормона (1000 нМ) способствовала полному восстановлению пигментного состава при последующем хлоридном засолении в концентрации 75 мМ NaCl. Более высокая концентрация хлорида натрия (150 мМ) вызывала уменьшение содержания хлорофилла *b* в растениях, обработанных ЭБЛ на 13 и 23% соответственно.

В ходе работы нами впервые показано влияние длительного воздействия 10 и 1000 нМ ЭБЛ на этапе выращивания растений-регенерантов картофеля в условии *in vitro,* с последующим хлоридным засолением в двух концентрациях 75 и 150 мМ NaCl. Протекторный эффект 24-эпибрассинолида выражался в восстановлении параметров фотосинтетического аппарата, наибольший эффект отмечен для ЭБЛ в концентрации 1000 нМ.

Исследование выполнено в рамках реализации Программы развития Томского государственного университета (Приоритет 2030, №НУ 2.1.22 ЛМУ).

Изменение физиолого-биохимических параметров проростков гороха и пшеницы при культивировании в условиях воздействия низкоинтенсивного магнитного поля различной частоты.

Мшенская Н.С., Кальясова Е.А., Ракова Ю.В., Кощеева В.М., Синицына Ю.В.

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, пр. Гагарина, 23, Нижний Новгород, Россия.
tasya.mshanka@yandex.ru

В связи с низкой воспроизводимостью результатов магнитобиологических исследований, в частности, касающихся исследований воздействия низкоинтенсивных и низкочастотных магнитных полей, актуальным является поиск физиолого-биохимических параметров, позволяющих обнаружить и оценить возникающие биоэффекты. Цель исследования – поиск физиолого-биохимических параметров и стадий развития проростков гороха и пшеницы, чувствительных к воздействию низкоинтенсивных магнитных полей.

Объектами исследования были проростки растений гороха (*Pisum sativum* L.) сорта Альбумен и пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Злата. Растения опытных групп культивировали при непрерывном воздействии электромагнитного поля с частотой 7,8 или 14,3 или 20,8 Гц, интенсивностью 18 мкТл, контрольные растения выращивались в условиях геомагнитного поля. Значения освещенности, влажности и температуры выращивания были идентичными для контрольных и опытных растений. Время культивирования растений – 18 дней.

Для оценки физиологического состояния растений каждые двое суток проводили морфометрические исследования – определяли длину побегов. На 18-е сутки культивирования проводили оценку биохимических параметров– определяли активность антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы), содержание продукта липопероксидации – малонового диальдегида (МДА), а также исследовали состав полярных липидов.

Показано, что в растениях гороха на 12-е сутки культивирования в условиях воздействия ЭМП с частотой 7,8 Гц наблюдалось увеличение длины побега на 8%, а при действии поля с частотой 20,8 Гц – уменьшение длины побега на 12%. ЭМП с частотой 14,3 Гц не вызывало подобного эффекта. Начиная с 14 суток культивирования длина проростков ни в одном из вариантов опыта не отличалась от контрольной.

Для растений пшеницы уже на 8-е сутки культивирования в условиях воздействия ЭМП с частотой 7,8 Гц было показано увеличение длины побега на 8%, а на 10-е сутки – на 11% относительно контроля; начиная с 12-х суток культивирования длина побегов не отличалась от контрольных значений. ЭМП с частотой 14,3 Гц не влияло на длину побега пшеницы на протяжении всего времени культивирования. ЭМП с частотой 20,8 Гц вызывало уменьшение длины побега на 10-14-е сутки культивирования в среднем на 10% относительно контроля, при дальнейшем выращивании данный параметр возвращался к контрольному уровню. Таким образом, проростки пшеницы показали большую чувствительность к воздействию ЭМП, чем растения гороха – изменения длины побега наблюдались на более ранних стадиях развития и сохранялись в течение большего временного периода. Характер наблюдаемых изменений ростовых процессов зависел от частоты ЭМП и не зависел от видовой принадлежности объекта исследования.

На 18 сутки культивирования в растениях гороха и пшеницы активность СОД оставалась без изменений относительно контрольных значений. Активность каталазы в растениях гороха не изменялась при выращивании в условиях воздействия ЭМП с частотой 7,8 или 20,8 Гц и снижалась на 20% относительно контрольного значения при воздействии поля с частотой 14,3 Гц. В растениях пшеницы активность каталазы не изменялась при выращивании в условиях действия ЭМП с частотами 7,8 и 14,3 Гц и возрастала на 17% относительно контроля при воздействии поля с частотой 20,8 Гц. Таким образом, изменение активности каталазы в растениях пшеницы и гороха при выращивании в условиях низкоинтенсивного ЭМП носило вариабельный характер и зависело как от частоты исследуемого поля, так и от видовой принадлежности объекта.

Содержание МДА и спектр полярных липидов в проростках гороха и пшеницы не изменялись при культивировании в условиях воздействия исследуемых ЭМП. Методом тонкослойной хроматографии во всех контрольных и экспериментальных группах растений определялись следующие фракции полярных липидов: фосфатидилэтаноламин, фосфатидная кислота, фосфатидилинозитол, фосфатидилсерин, фосфатидилхолин и сульфолипиды. Таким образом, воздействие низкоинтенсивных ЭМП на протяжении 18 суток культивирования не оказывало влияние на липидную компоненту мембран растений гороха и пшеницы.

В целом, можно сделать вывод о существовании магниточувствительных стадий развития проростков гороха и пшеницы, а также физиологических и биохимических процессов, подверженных влиянию исследуемых ЭМП – максимальное влияние на ростовые процессы оказывали ЭМП с частотами 7,8 и 20,8 Гц при возрасте растений 8-12 суток. При достижении растениями 18-дневного возраста магнитозависимый эффект на биохимическом уровне проявлялся в изменении активности каталазы, причем характер зависимости ответа от частоты воздействия зависел от видовой принадлежности объекта исследования.

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

Первые свидетельства влияния тилакоидной альфа-карбоангидразы 2 на state transitions.

Надеева Е.М., Игнатова Л.К., Руденко Н.Н., Ветошкина Д.В., Козулева М.А., Иванов Б.Н.

Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований РАН» − обособленное подразделение Институт фундаментальных проблем биологии РАН. Институтская ул., 2, Пущино, Московская область, Россия.
zhurikova-alena@yandex.ru

При освещении растений светом, предпочтительно возбуждающим ФС2, или при переходе от темноты к освещению происходит активация STN7 киназы, фосфорилирующей белки Lhcb1 и Lhcb2, которые диссоциируют от ФС2, и связываются с ФС1, осуществляя таким образом переход из состояния 1 в состояние 2 процесса state transitions. Необходимым условием для активации STN7 киназы является связь пластохинона в хинол-окисляющем сайте цитохромного b_6/f комплекса, следовательно изменение окислительно-восстановительного состояния пула пластохинона будет влиять на активацию киназы. В мутантных растениях без тилакоидной, как нами ранее установлено, α-карбоангидразы 2 (альфа-КА2) относительная степень восстановления пула пластохинона была ниже, чем в растениях дикого типа (ДТ).

Эксперименты проводили на растениях дикого типа (ДТ) и мутантных растениях с нокаутированным геном *At2g28210*, кодирующим альфа-КА2 (две гомозиготные линии 9-11 и 8-3). Растения выращивали с 8-часовым фотопериодом при интенсивности света 50 мкмоль квантов/ $м^2с$ и концентрации CO_2 400 ppm.

Протекание процесса state transitions оценивали с помощью измерения спектров низкотемпературной флуоресценции. После присоединения фосфорилированных белков антенны ФС2 к ФС1 они становятся функциональной антенной для ФС1, что приводит к возрастанию уровня флуоресценции ФС1 и снижению уровня флуоресценции ФС2, таким образом по изменению соотношения уровня флуоресценции ФС1/ФС2, измеренных при 77°K, можно судить о протекании процесса state transitions. У растений ДТ происходило изменение отношения пиков флуоресценции ФС1/ФС2 на 22%, а мутанта по альфа-КА2 линии 9-11 – на 13% и у линии 8-3 – на 8%, соответственно, после инициации state transitions освещением по сравнению с значениями, полученными после адаптации к темноте. Процесс state transitions – один из механизмов нефотохимического тушения флуоресценции (НФТ) и может быть также оценен по релаксации НФТ в темноте, после освещения, в таком случае происходит оценка не перехода от ФС2 к ФС1, а обратного процесса – возвращения антенны от ФС1 к ФС2 в темноте или при освещении дальним красным светом. На основании работы было установлено время релаксации части НФТ, связанного со state transitions – между 15-ой и 24-ой мин после выключения действующего красного света, преимущественно возбуждающего ФС2. В мутанте по альфа-КА2 обеих линий показатель, характеризующий релаксацию НФТ с 15 по 24-ю минуту, оказывался в среднем на 40% ниже, чем в листьях растений ДТ. Таким образом, обнаружена более низкая способность мутантных растений с заблокированным синтезом альфа-КА2 осуществлять state transitions по сравнению с растениями ДТ.

Уровень экспрессии генов *lhcb1* и *lhcb2*, кодирующих белки светособирающей антенны ФС2 в мутанте по альфа-КА2 был выше, чем растениях ДТ. Эти данные коррелируют с результатами Вестерн-блот анализа, показавшего, что содержание внешних белков антенны ФС2 Lhcb1 и Lhcb2 в мутанте было на 20-30% выше, чем в ДТ. При этом достоверной разницы между мутантом и ДТ в содержании белка кор-комплекса ФС2, D1, и белка ФС1, PsaC, не было обнаружено. Полученные данные по содержанию белков хорошо коррелируют с ранее полученным более низким содержанием пероксида водорода в листьях. Показано, что количество пероксида водорода в листе регулирует интенсивность синтеза белков антенны светособирающего комплекса ФС2.

Интересно, что несмотря на большее содержание белков Lhcb1 и Lhcb2, которые фосфорилируются и могут участвовать в процессе state transitions мутантные растения все равно оказываются неспособны к полноценному осуществлению процесса state transitions. В дальнейшем мы предполагаем установить возможный механизм участия альфа-КА2 в state transitions.

Антиокислительное действие ресвератрола в системе мембран митохондрий, выделенных из проростков гороха *Pisum Sativum L.*

Неврова О.В.*, Герасимов Н.Ю.*, Жигачева И.В.*, Генерозова И.П.**, Голощапов А.Н.*

* Институт Биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН
119334, Россия, Москва, ул. Косыгина, 4;
** Институт Физиологии растений им .К.А.Тимирязева РАН
127276, Россия, Москва, ул. Ботаническая, 35.
n.yu.gerasimov@gmail.com

Полифенольный компонент винограда и красного вина, природный антиоксидант - ресвератрол - имеет широкое применение и стал неотъемлемой частью жизни современного человека. Так, известно о его использовании в косметической промышленности, в медицине, многочисленны данные о противораковом действии агента. Неоднозначным остается механизм действия ресвератрола на систему мембран митохондрий растительной клетки.

В результате переноса электрона по ЭТЦ митохондрий, образуются и могут накапливаться АФК, которые приводят к ошибкам в работе клеточных систем, и, как следствие, к митохондриальным дисфункциям. Для нормальной жизнедеятельности растение имеет механизмы клеточной защиты эндогенной и экзогенной природы. Антиокислительная защита может осуществляться за счет вывода или нейтрализации АФК, с помощью воздействия на коферменты ионов металлов в реакциях образования АФК, например, по типу Фентона, полученных извне антиоксидантов или выработанных самостоятельно в процессе жизни растения. Интересно, что через систему регуляции пероксидного окисления липидов АФК антиокислительная функция полифенолов может влиять на структуру и функцию митохондрий. Поэтому целью работы является попытка понять механизмы действия антиоксиданта ресвератрола на структуру мембран митохондрий.

Митохондрии получали из клеток проростков гороха *Pisum Sativum L.* методом дифференциального центрифугирования в калий-фосфатном буфере. Для приготовления образца митохондрии разбавляли в среде выделения таким образом, чтобы содержание белка в конечном растворе составляло 2 мг/мл. Ресвератрол вводили в образец с митохондриями in vitro в концентрациях $5*10^{-6}$, $5*10^{-8}$, $5*10^{-10}$, $5*10^{-12}$, $5*10^{-14}$, $5*10^{-16}$ М. Текучесть липидного бислоя мембран определяли методом электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) спиновых зондов.

Показано, что ресвератрол в физиологических и сверхмалых дозах изменял структуру мембран митохондрий, выделенных из проростков гороха. Поскольку, активность мембранных белков существенно зависит от липидного окружения, данный антиоксидант путем изменения структуры липидного бислоя изменял активность белков и ферментов, таким образом влияя на активность и функции митохондрий.

Максимальное действие антиоксиданта наблюдалось, по сравнению с другими дозами, для большой ($5*10^{-6}$ М) и для сверхмалой ($5*10^{-14}$ М) концентраций. В областях доз между физиологическими и сверхмалыми, $5*10^{-10}$ М, ресвератрол практически не изменял микровязкость липидной и прибелковой областей мембран митохондрий по сравнению с контролем, т.е. обнаружен эффект «мертвой зоны». Доказано, что существует бимодальная зависимость эффекта от дозы, когда эффект от действия препарата в сверхмалых концентрациях проявляется значительно, затем, по мере увеличения концентрации, он уменьшается или совсем исчезает («мертвая зона»), где, впоследствии, вновь увеличивается.

Кроме того, было выявлено, что ресвератрол в физиологических концентрациях сдвигает термоиндуцированный структурный переход в область более низких температур, что может мешать нормальной регуляции естественных процессов.

Физиолого-биохимические признаки засухоустойчивости растений картофеля.

***Нестеров В.Н.*[*], *Милехин А.В*[**], *Бакунов А.Л.*[**], *Богданова Е.С.*[*], *Рубцов С.Л.*[**], *Розенцвет О.А.*[*]**

[*] Самарский федеральный исследовательский центр РАН, Институт экологии Волжского бассейна РАН, ул. Комзина, 10, Тольятти, Россия;
[**] Самарский федеральный исследовательский центр РАН, Самарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства им. Н.М. Тулайкова, ул. Карла Маркса, 41, Безенчук, Россия.
nesvik1@mail.ru

Картофель (*Solanum tuberosum* L.) в настоящее время выращивают примерно в 150 странах мира, от 69° северной широты до 50° южной широты на всем протяжении от уровня моря до высоты 4000 м. Этот факт свидетельствует о том, что картофель является либо высоко адаптивной культурой, либо он выращивается в неоптимальных условиях. Потепление климата в нашей стране оказалось больше глобального – размах аномалий среднегодовой температуры в РФ составляет 2–4°С, в то время как для земного шара он немного превосходит 1°С. Главные земледельческие районы нашей страны расположены в зоне недостаточного увлажнения, что необходимо учитывать при выращивании сельскохозяйственных культур, включая картофель. Из-за климатических изменений в некоторых регионах можно ожидать как улучшения урожайности картофельных культур, так и ее снижения. Поэтому создание и/или отбор культур с повышенной устойчивостью к жаре, засухе и соли имеет важное значение для практики сельского хозяйства и обеспечения питания людей.

Засухоустойчивость – способность генотипов стабильно сохранять обменные процессы в растениях при неблагоприятных условиях развития (водный и температурный стрессы). Одним из физиологических признаков, связанных с засухоустойчивостью, является показатель ксероморфности растений. Часто растения при этом имеют мелкоклеточную структуру ткани, что позволяет им легче выносить напряжение, возникающие при сжатии клеток в процессе обезвоживания. Показатель ксероморфности растений может быть оценен числом устьиц на единицу площади листа. Чем больше число устьиц – тем выше ксероморфность сорта, а, следовательно, его устойчивость. В свою очередь засухоустойчивость представляет собой сложное явление и зависит от различных причин. Это и анатомо-морфологические особенности растений, обусловливающие уменьшение испарения, и физиологическая стойкость цитоплазмы к обезвоживанию и высоким температурам.

Параметрами, характеризующими потенциальную функциональную активность и способность справляться с неблагоприятными условиями среды, являются фотосинтетические пигменты; мембраны, обеспечивающие транспорт веществ; компоненты, защищающие клетки от свободных радикалов и процессов окисления. Например, количество пигментов отражает фотосинтетическую функцию растений и в определенной степени связано с продуктивностью сорта. Состав клеточных мембран (липидов и белков) отражает функциональное состояние мембран. Перекисное окисление липидов (ПОЛ) является одним из первых ответов растений на неблагоприятные воздействия, а содержание антиоксидантов свидетельствует о балансе клеточных процессов катаболизма и анаболизма.

Целью настоящей работы было исследовать физиолого-биохимические признаки засухоустойчивости растений *S. tuberosum*. С этой целью определяли содержание хлорофиллов (Хл) *a*, Хл *b,* каротиноидов (Кар), количество мембранных (МБ) и водорастворимых белков (ВБ), мембранных фосфо- (ФЛ), гликолипидов (ГЛ) и нейтральных (НЛ) липидов, уровень ПОЛ и количество пролина в листьях 24 сортов картофеля. Исследования проводили на опытном участке Самарского НИИСХ – филиала СамНЦ РАН (г. Безенчук) 2020 г. Пробы листьев отбирали в первой половине дня в период активного цветения (1 декада июля). В периоды завязывания клубней и нарастания их массы отмечено 16,2 мм осадков при среднем многолетнем значении 76 мм, а средняя температура воздуха составила 25°С, при благоприятной температуре для роста ботвы 17–21°С. Степень ксероморфности сортов растений картофеля была определена по числу и размерам устьиц. Число устьиц на $см^2$ листа варьировало от 22 до 38 тыс. шт в зависимости от сорта. Длина устьиц была в диапазоне от 21 мкм до 29 мкм. Оводненность листьев всех сортов картофеля была на уровне 80 % от сыр. м. В зависимости от степени ксероморфности растения были разделены на две группы: первая имела в среднем 25 тыс. шт. устьиц на $см^2$ листа и вторая, более выраженная по ксероморфности группа, – 33 тыс. шт. устьиц. Как оказалось, количество зеленых пигментов (1,68 мг/г сыр. м.), ГЛ (8,7 мг/г сыр. м.), ФЛ (7,2 мг/г сыр. м.), НЛ (7,7 мг/г сыр. м.) и пролина (6,8 мг/г сух. м.) было наибольшим во второй группе. В первой, менее ксероморфной группе, в листьях было на 20 % выше содержание МБ, чем во второй группе. При этом урожайность (т/га) двух групп сортов растений картофеля достоверно не различалась. Полученные данные показывают, что белковый компонент метаболизма *S. tuberosum* при развитии черт ксероморфизма становится более уязвимым и уступает место липидной составляющей при адаптации растений к засушливым условиям.

Поддержание баланса углерода в разновозрастных лесах. Роль ферментов антиоксидантной системы и фенольного метаболизма как участников формирования ядровой древесины у *Pinus sylvestris* L.

Никерова К.М., Галибина Н.А., Мощенская Ю.Л., Тарелкина Т.В., Софронова И.Н., Бородина М.Н., Коржова М.А., Ершова М.А., Чирва О.В., Корженевский М.А., Афошин Н.В., Серкова А.А., Иванова Д.С., Семенова Л.И.

Институт леса – обособленное подразделение ФГБУН ФИЦ «Карельский научный центр Российской академии наук», ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия.
knikerova@yandex.ru

Взаимосвязанное общеклеточное циклическое и каскадное функционирование компонентов антиоксидантного и фенольного метаболизма представляет собой сложный многостадийный механизм, осуществляющийся посредством активных форм кислорода (АФК) и фенольных компонентов, которые являются как субстратами, так и продуктами лежащих в основе этих процессов реакций.

Особый характер этих взаимодействий лежит в основе многочисленных событий, протекающих в организме растения. Одним из них является формирование ядровой древесины (HW) – нефункциональной ксилемы, образующейся в результате старения заболони (SW).

Впервые на территории России в ходе исследования растений сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) разного возраста в сосняках брусничных в средней и северной подзоне тайги был изучен метаболический статус растений (содержание экстрактивных веществ, целлюлозы, лигнина; активность ферментов фенольного обмена и антиоксидантной системы (АОС)) по радиальному вектору «камбиальная зона (формирующаяся флоэма и ксилема) –SW – транзитная зона (TZ) –HW».

В экспедиционных условиях для обнаружения зоны перехода между SW и HW были апробированы разные варианты качественного определения. Самым успешным при применении на разных возрастах и в разных погодных условиях стало совместное использование водных растворов нитрата калия и сульфаниловой кислоты, которые вступали в цветную химическую реакцию с содержащимся в HW фенольным метаболитом – пиносильвином, синтезирующимся под контролем стильбенсинтазы (STS).

В период активного камбиального роста в ряду флоэма – ксилема – SW при движении от ксилемы текущего года к SW возрастает активность супероксиддисмутазы (СОД) и при не изменяющейся активности каталазы (КАТ) значительно снижается активность пероксидазы (ПО) при увеличении активностей полифенолоксидазы (ПФО) и фенилаланинаммиак-лиазы (ФАЛ). Отдельно отметим, что возрастание активности ФАЛ в ксилеме тесно сопряжено с возрастанием активности ПФО, то же наблюдается и во флоэме. При этом положительно коррелируют количественные значения активности ПО между ксилемой и флоэмой.

Содержание экстрактивных веществ выше в HW по сравнению с SW и коррелирует с увеличением камбиального возраста (СА). Для содержания целлюлозы показано обратное, и обнаружена отрицательная корреляция с СА. Для лигнина не показано значимых отличий между HW и SW, однако его процент на массу древесины убывает с увеличением СА и в HW, и в SW.

В период покоя в северной подзоне тайги и северной границе северной подзоны наблюдается тенденция на дальнейшее повышение активности ФАЛ в ряду SW-TZ под контролем экспрессии соответствующего гена при снижении активностей ПО и ПФО и значимо не изменяющихся активностях СОД и КАТ. При этом содержание экстрактивных веществ и лигнина монотонно возрастает по направлению от SW к HW через TZ. Эти события происходят при повышении уровня экспрессии генов, кодирующих STS, халкон-флавонизомеразу (CHI) и флавонон-3-гидроксилазу (F3H), в TZ по сравнению с HW. При этом происходит синтез пиносильвина – основного фенольного вещества в HW у *Pinus sylvestris*, флаванонов, дигидрофлавонолов.

Пространственные и временные особенности метаболических событий при формировании HW у *Pinus sylvestris* L., одним из результатов которых является формирование различных классов фенольных соединений в HW под контролем соответствующих генов и ферментов АОС и фенольного метаболизма, могут стать одной из теоретических основ для понимания баланса углерода в разновозрастных естественных лесах. Возможная причина – синтез «сложных» фенолов в HW,что, в свою очередь, приводит к выведению углерода из активных метаболических реакций.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось при финансовой поддержке РНФ (№ 21-14-00204).
Исследования выполнены на научном оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук».

Роль липидов вечнозеленого кустарничка *Ephedra monosperma* к сезонным изменениям климата криолитозоны Якутии

***Нохсоров В.В.*[*], Софронова В.Е.[*], Сеник С.В.[**], Дударева Л.В.*[***]**

[*] Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, пр. Ленина, 41, Якутск, Россия;
[**] Ботанический институт им. В.Л. Комарова, Профессора Попова ул., 2, Санкт-Петербург, Россия;
[***] Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Лермонтова ул., 132, Иркутск, Россия.
vv.nokhsorov@mail.ru

Адаптация растительных организмов к изменяющимся условиям среды является одной из ключевых проблем эволюционной биологии. Растения в процессе своего развития произрастают в переменных условиях среды и постоянно подвергаются действию широкого круга факторов, среди которых одной из важнейших является температура. В условиях естественной среды обитания растения подвергаются воздействию различных неблагоприятных факторов биотического, абиотического и антропогенного происхождения. Среди многообразия стрессовых воздействий одним из самых распространенных является гипотермия, которая выступает в качестве основного фактора, определяющего географическое распространение дикорастущих и сельскохозяйственных растений на нашей планете.

В высших растениях, как и в других пойкилотермных организмах, наиболее чувствительными к изменению температурных параметров являются липиды клеточных мембран, которые обеспечивают взаимосвязь клетки с внешней средой, Способность клеток холодо- и морозоустойчивых растений поддерживать необходимую текучесть мембран при изменении температурного режима является неотъемлемой частью устойчивости растений к низким температурам. Главным фактором, который позволяет поддерживать текучесть клеточных мембран, является эффективная работа клеточных десатураз, которые обеспечивают изменение уровня ненасыщенности жирных кислот. В мерзлотных экосистемах поддержание текучести мембран имеет особое биологическое значение, поскольку растения подвергаются воздействию максимальных сезонных амплитуд температур, которая может достигать до 100 °C. В таких природно-климатических условиях, произрастает хвойник *Ephedra monosperma* J.G. Gmel. ex C.A. Mey. – длинно-корневищный, вечнозеленый кустарничек с высотой до 25 см, обитает на степных склонах, остепненных опушках и полянах сосновых лесов на карбонатных породах. Растение светолюбивое, засухоустойчивое. Функцию ассимиляции осуществляют многочисленные, сильноветвистые зеленые побеги с редуцированными, чешуйчатыми листьями.

Несмотря на большое разнообразие полученных данных по липидному обмену растений в последнее время, наши представления о механизмах динамического изменения липидных профилей в ходе развития растений и действия низких температур все еще достаточно ограничены. В связи с этим, целью данной работы явилось выяснение роли мембранных глицеролипидов и жирных кислот, также молекулярных видов глицеролипидов у вечнозеленого кустарничка *Ephedra monosperma* при адаптации к холодному климату криолитозоны Якутии.

С помощью таких методов как двумерная TLC, GC/MS и ESI-MS выявлены сезонные изменения абсолютного содержания мембранных липидов, жирных кислот общих липидов и молекулярные виды мембранных липидов в побегах вечнозеленого кустарничка эфедры односемянной.

Судя по полученным экспериментальным данным, важным этапом перехода от стрессовых факторов первой фазы холодового закаливания к адаптационным реакциям, является изменение экспрессии генов, выражающееся в ингибировании тех из них, которые, в норме контролируют рост, развитие и фотосинтез. При этом, судя по полученным данным (значительное повышение абсолютного содержания фосфатидилхолина, фосфатидилэтаноламина, фосфатидилглицерина и ненасыщенных жирных кислот), вероятно, активируются гены (*des*A, *des*B), кодирующие синтез десатураз, участвующих в образовании линолевой и линоленовой кислот, которые экспрессируются под влиянием низких положительных температур в осенний период. В конечном итоге восстанавливается исходная (в функциональном смысле) текучесть мембран и физиологическая активность связанных с ними ферментных и электрон-транспортных систем, в частности фотосинтеза.

Роль фитогормонов и некротрофных эффекторов SnTox в развитии устойчивости/восприимчивости растений пшеницы к патогену *Stagonospora nodorum* (Berk.)

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

Институт биохимии и генетики - обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского Федерального исследовательского центра РАН, пр. Октября, 71, Уфа, Россия.
tanyawww89@mail.ru

Важнейшим фактором вирулентности возбудителя септориоза пшеницы *Stagonospora nodorum* Berk. являются многочисленные некротрофные эффекторы (НЭ) гриба (SnTox), взаимодействующие с продуктами генов восприимчивости хозяина (Snn). Взаимодействия SnTox-Snn осуществляются по типу ген-на-ген и ведут к развитию болезни. В работе было изучено два изолята *S. nodorum* SnБ и Sn9МН, несущие разный набор генов эффекторов. У изолята Sn9МН в геноме были обнаружены 3 гена НЭ - SnToxA, SnTox3 и SnTox1. У изолята SnБ были обнаружены только два гена НЭ – SnToxA и SnTox3. Изучено три сорта мягкой яровой пшеницы с различным аллельным состоянием генов восприимчивости. Сорт Жница содержал три доминантные аллели (*Tsn1/Snn1/Snn3*) к трем НЭ *S. nodorum* - SnToxA, SnTox1 и SnTox3, сорт Каз10 содержал две доминантные аллели (*tsn1/Snn3/Snn1*) к двум НЭ - SnTox1 и SnTox3, сорт Ом35 содержал одну доминантную аллель (*tsn1/snn3/Snn1*) к НЭ SnTox1. Таким образом, при инфицировании различных сортов двумя изолятами были изучены различные взаимодействия и их сочетания: SnTox3-*Snn3*, SnToxA-*Tsn1* и SnTox1-*Snn1*. Подавление защитного ответа растений пшеницы эффекторами *S. nodorum* SnToxA, SnTox1, SnTox3 осуществлялось благодаря снижению генерации активных форм кислорода (АФК) у восприимчивых генотипов пшеницы на начальном этапе инфицирования. SnTox3 ингибировал продукцию АФК в пшенице, воздействуя на НАДФН-оксидазу, пероксидазу, супероксиддисмутазу и каталазу посредством активации этиленового сигнального пути. SnToxA подавлял продукцию АФК в пшенице, воздействуя на пероксидазы и каталазу. SnTox1 ингибировал продукцию АФК в пшенице, главным образом влияя на пероксидазу.

Важную роль в регуляции защитного ответа пшеницы играют фитогормоны. Этилен, салициловая кислота (СК) и жасмоновая кислота являются ключевыми фитогормонами, участвующими в иммунитете растений, но также известно, что другие растительные фитогормоны взаимодействуют с ними. Классические фитогормоны цитокинины (ЦК) являются важными участниками передачи сигналов защиты растений, но их роль в иммунитете растений изучена недостаточно, также как взаимодействие между этиленом и цитокининами.

Обработка растений пшеницы ЦК (зеатином) приводила к сокращению зон поражения на листьях, а обработка этефоном (предшественником этилена), напротив, к увеличению таковых. Все три взаимодействия SnToxA- *Tsn1*, SnTox3-*Snn3*, SnTox1-*Snn1* изменяли содержание ЦК, регулируя их синтез и метаболизм, что приводило к подавлению защитных реакций и развитию восприимчивости. Общим механизмом регуляции уровня ЦК было подавление их синтеза и активация окислительного распада. Отличительной чертой SnTox3-*Snn3* взаимодействия была активация реакции глюкозилирования под воздействием этилена. Показано, что SnTox3 направленно активировал биосинтез и сигнальный путь этилена, что приводило к снижению содержания зеатина в инфицированных растениях и обеспечивало регуляцию редокс-метаболизма, т.е. уменьшение содержания перекиси водорода и активности пероксидазы, необходимое для успешной колонизации хозяина на начальных этапах инфицирования. Гистохимический анализ распределения ЦК в инфицированных листьях восприимчивого сорта показал, что данные фитогормоны локализовались в основном в развивающихся грибных структурах, тогда как клетки самого растения были лишены ЦК. В обработанных ингибитором рецепции этилена 1-метилциклопропеном (1-МЦП) листьях пшеницы ЦК были локализованы в клетках и клеточных стенках мезофилла. В обработанных этефоном листьях клеточные стенки были лишены зеатина, а фитогормон концентрировался в развивающихся гифах патогена. Одним из возможных объяснений аккумуляции ЦК в пределах локализации грибных структур может быть их активное поглощение грибом с участием переносчиков из апопласта растений. Так, нами было показано, что *S. nodorum* in vitro способен активно поглощать данные фитогормоны, накапливая их в своем мицелии, так как протонофор СССР (от carbonyl cyanide m-chlorophenylhydrazone) снижал это накопление. Также при росте *S. nodorum* in vitro на средах с добавлением ЦК наблюдали увеличение образования количества спор в два – четыре раза.

Недавно было обнаружено прямое взаимодействие SnToxA и SnTox3 с патоген-индуцируемым белком PR-1, маркером салицилатного сигнального пути, приводившее к повышению восприимчивости растений к *S. nodorum*. Нами было показано, что SnTox3 подавлял СК-путь и окислительный взрыв у восприимчивого генотипа пшеницы. Полученные данные позволяют выдвинуть предположение, что устойчивость растений пшеницы регулируется через антагонистическое взаимодействие сигнальных путей салициловой кислоты и этилена при участии цитокининов.

Работа поддержана грантом РНФ №22-76-00055.

Физиолого-биохимические особенности растений огурца, выращенных из обработанных конъюгатами оксикоричных кислот с хитозаном семян, в условиях солевого стресса

***Овчинников И.А.*[*], *Калацкая Ж.Н.*[*], *Недведь Е.Л.*[*], *Гилевская К.С.*[**], *Куликовская В.И.*[**], *Николайчук В.В.*[**]**

[*] Институт экспериментальной ботаники НАН Беларуси, ул. Академическая, 27, Минск, Беларусь;
[**] Институт химии новых материалов НАН Беларуси, ул. Франциска Скорины, 36, Минск, Беларусь.
igor-1606@mail.ru

В формировании устойчивости растений важную роль играют фенольные соединения (гидроксикоричные кислоты, флавоноиды, таннины, флаволигнаны), при этом, например, такие простые фенольные соединения как гидроксилированные и метилированные производные коричной кислоты могут оказывать существенное влияние на метаболизм растений.

Цель работы состояла в изучении влияния конъюгированых форм оксикоричных кислот и хитозана (конъюгат феруловой кислоты с хитозаном молекулярной массы 30кДа (Х30-ФК), конъюгат кофейной кислоты с хитозаном молекулярной массы 30кДа (Х30-КК)) на физиолого-биохимические параметры растений огурца в условиях действия солевого стресса. Конъюгаты хитозана (30кДа) и оксикоричных кислот (кофейной и феруловой) получали карбодиимидным методом. Семена огурца (*Cucumis sativus* L.) сорт Малышок обрабатывали водными растворами конъюгатов 2,5 мг/мл, полученных из лиофилизированных порошков, путем их механического перемешивания при объеме рабочего раствора 20мкл на 1 г семян. Контролем служили необработанные семена. Растения огурца выращивали в закрытом грунте, в условиях искусственного освещения (14 ч света / 10 ч темноты) до 30-дневного возраста (стадия 3-4–ого настоящего листа). На стадии 1-ого настоящего листа создавали солевой стресс, интервальным поливом субстрата 100мМ раствором хлорида натрия 3-х кратно (конечная электропроводность субстрата составила 5,013 мS). В оптимальных условиях растения поливали водопроводной водой.

В условиях засоления наблюдалось существенное торможение роста и развития растений огурца во всех исследуемых вариантах обработки семян, что выражалось в значительном уменьшении массы надземной части и корневой системы растения, (в среднем на 40%) относительно растений, выращенных в оптимальных условиях.

При действии NaCl происходило существенное возрастание содержания пролина в корневой системе растений огурца относительно оптимальных условий выращивания. Содержание пролина в корнях контрольного варианта, выращенных на солесодержащем субстрате было в 2,5 раза выше аналогичного показателя в оптимальных условиях выращивания. В вариантах обработки конъюгатами (X_{30}-ФК) и (X_{30}-КК) содержание пролина в условиях солевого стресса было ниже относительно стрессового контроля в среднем в 2 раза, однако его уровень значительно превосходил таковой в проростках, выращенных в бесстрессовых условиях в среднем в 1,5 раза. Накопление пероксида водорода в стрессовом контроле оставалось на уровне оптимального контроля. При обработке X_{30}-ФК накопление перекиси водорода находилось на уровне контрольных значений, в то время как обработка X_{30}-КК привела к снижению накопления в оптимальных условиях на 19%, а в стрессовых условиях выращивания на 11% относительно контроля. Действие конъюгатов способствовало снижению активности растворимой пероксидазы как в оптимальных, так и в стрессовых условиях выращивания. В оптимальных условиях обработки привели к снижению ее активности в среднем на 37% относительно контроля. При действии стресса активность пероксидазы уменьшилась в 3,6 раза относительно оптимального контроля. В стрессовых условиях выращивания обработки привели к уменьшению активности фермента в среднем на 10% относительно стрессового контроля. В оптимальных условиях выращивания обработка Х30-ФК привела к снижению активности СОД на 33% относительно контроля, а активность фермента при обработке Х30-КК была на уровне оптимального контроля. При действии стрессового фактора активности СОД уменьшилась на 22% относительно оптимального контроля Обработки привели к снижению активности СОД в условиях солевого стресса в среднем на 31% относительно стрессового контроля.

Таким образом, обработка семян огурца конъюгированными формами оксикоричных кислот и хитозана смягчает повреждающее действие солевого стресса у развивающихся растений огурца, вероятно, за счет торможения активности окислительных процессов в растительных клетках.

Влияние содержания биогенных элементов в исходном семенном материале сортов ячменя на устойчивости сортов к абиотическому стрессу

Осипова Л.В., Курносова Т.Л., Быковская И.А., Федорова Е.А.

ФГБНУ «Всероссийский НИИ агрохимии имени Д.Н. Прянишникова»,
127550, ул. Прянишникова, д.31А, Москва, Россия.
bykovskaya_irina@bk.ru

В проведенных лабораторных и вегетационных опытах были установлены различия между сортами по величине изменения физиолого-биохимических показателей при действии стрессоров, вызванных почвенной засухой и осмотически активными растворами сахарозы, имитирующими окислительный стресс. Наибольшие различия по интенсивности процессов свободно-радикального окисления, активности роста и синтеза пигментов фотосинтеза в нормальных условиях культивирования и при действии стрессов наблюдались у сортов ярового ячменя Московский 2 и Московский 86.

Устойчивость сорта может зависеть от условий формирования зерновок на материнском растении.

Зерновки, формируясь на материнском растении, заведомо отличаются по положению в колосе, от чего зависит количество закладывающихся проводящих пучков и структур зародыша. Условия полива определяют массу и выполненность зерна и т.д. Поэтому, семенной материал, формируясь каждый год в новых условиях культивирования, отличается по физиологическим и хозяйственным признакам, что не может не найти отражения в абсолютной величине устойчивости одного и того же сорта.

Условия формирования зерен (эмбриогенез) могут влиять на реализацию адаптивного потенциала растений. Поэтому были проведены определения элементного состава семенного материала сортов Московский 2 и Московский 86 одного года репродукции.

По результатам определения выявлены значительные различия в концентрации железа, молибдена, йода и селена: концентрация железа в зерновках сорта Московский 2 была в 10,8 раз меньше, чем у сорта Московский 86; содержание молибдена в неустойчивом сорте Московский 2 было в 3,6 раза меньше, чем в сорте Московский 86; концентрация селена в сорте Московский 2 была в 4,6 раз ниже, чем у устойчивого сорта Московский 86; концентрация йода в изучаемых сортах различалась в 3,6 раз.

Содержание остальных элементов: кальция, магния, кремния, цинка, марганца, бора, меди и стронция находилась в одном диапазоне значений у обоих изучаемых сортов.

Различия в содержании биогенных элементов: железа, йода, молибдена и селена могли сказаться на физиолого-биохимических процессах в критические периоды онтогенеза и привести к снижению адаптивной способности у сорта Московский 2. Кроме того, у этого сорта было повышено содержание свинца в 5,2 раза по сравнению с сортом Московский 86.

Возможно, что сортоспецифичность реакции ярового ячменя на действие стрессоров обусловлена в некоторой степени и различиями в содержании отдельных биогенных элементов в исходном семенном материале.

Быстрорастущий фенотип генетически модифицированного тополя берлинского

Павличенко В.В., Протопопова М.В.

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Лермонтова ул., 132, Иркутск, Россия.
vpavlichenko@gmail.com

Гиббереллины являются одной из важнейших групп фитогормонов, регулирующих рост и развитие растений. Кроме регуляции роста гормоны данной группы контролируют такие процессы как прорастание семян, удлинение корней и стеблей, рост листьев, закладку и развитие цветов, формирование плодов, участвуют в детерминации пола у растений. У высших растений ключевые пути биосинтеза гиббереллинов катализируются тремя ферментами: гиббереллин-20-оксидаза, гиббереллин-3-оксидаза и гиббереллин-2-оксидаза. Работы по изменению путей биосинтеза гиббереллинов генно-инженерным способом имеют важное прикладное значение. Так, растения с увеличенной скоростью роста обладают высоким ресурсным потенциалом, и могут быть использованы как источник быстро возобновляемого сырья для биорефайнинга, включая производство биотоплива. Кроме того, быстрорастущие древесные культуры могут быть использованы в мероприятиях по лесовосстановлению, ветрозащите или рекультивации загрязненных земель. Не менее важным представляется использование быстрорастущих трансгенных культур как биореакторов для наработки ценных метаболитов. В ряде публикаций показано, что отдельные гены, кодирующие ключевые ферменты биосинтеза гиббереллинов, могут быть эффективно использованы для генетической трансформации растений и получения фенотипа, характеризующегося ускоренным ростом и развитием. В настоящем исследовании мы демонстрируем еще одну успешную генетическую трансформацию растительного объекта геном, кодирующим гиббереллин-20-оксидазу, приведшую к формированию специфического быстрорастущего фенотипа. В качестве объекта генетической трансформации был выбран тополь берлинский (*Populus berolinensis* K. Koch) – гибрид тополя лавролистного (*P. laurifolia* Ledeb.) и тополя черного (*P. nigra* L.). Тополь берлинский является удобным объектом для изучения эффектов генетической трансформации древесных растений. Данный вид довольно быстро растет в лабораторной культуре, легко размножается срезанием и укоренением верхушечной части растения, а также дает много боковых побегов после срезания апикальной меристемы. Тополя и некоторые другие представители семейства ивовых относятся к наиболее быстрорастущим видам древесных растений в сложных климатических условиях нашей страны. Тополь в условиях Западной и Восточной Сибири достигает минимально необходимых размеров для использования уже через 4-5 лет после высадки черенка в грунт. Древесина тополей обладает ценными свойствами, определяющими возможность ее широкого использования в различных областях промышленности. Так, она характеризуется высоким содержанием целлюлозы относительно лигнина, что делает ее ценным сырьем при производстве целлюлозы, полуцеллюлозы, древесной массы, этилового спирта, каучука. Пластичность древесины тополя определяет ее широкое использование в производстве строительных материалов и изготовлении мебели. Высокие экологические показатели сжигания древесины тополя делает ее перспективным сырьем при производстве различных видов биотоплива. Агробактериальную генетическую трансформацию осуществляли с использованием бинарной векторной системы pBI121, несущей открытую рамку считывания гена гиббереллин-20-оксидазы из *Arabidopsis thaliana* L. (*AtGA20ox1*) и содержащей селективный ген неомицин фосфотрансферазы II – *nptII*, определяющий устойчивость к антибиотику канамицину. В качестве растительных эксплантов для кокультивации с агробактерией использовали сегменты междоузлий без пазушных почек. Для регенерации и микроклонального размножения тополя использовали твердую питательную среду на основе MS 5524 с добавлением тиамина (1 мг/л), пиридоксина (0,5 мг/л), никотиновой кислоты (0,5 мг/л), сахарозы (20 г/л) и агара (7 г/л). Кислотность среды доводили до pH 5,7. Для регенерации трансгенных растений использовали только один тип питательной среды с добавлением бензиладенина (0,2 мг/л), тидиазурона (0,02 мг/л), нафтилуксусной кислоты (0,01 мг/л). В результате регенерации на селективной питательной среде, содержащей канамицин (50 мг/л) и цефотаксим (250 мг/л), было отобрано 15 различных трансгенных линий тополя берлинского. Отсутствие агробактериальной контаминации у растений проверяли инкубацией частей листьев на питательной среде YEB без антибиотика. Трансгенез был подтвержден укоренением регенерантов в присутствии канамицина в питательной среде (50 мг/л) и положительным результатом ПЦР с использованием праймеров, специфичных к генам *nptII* и *AtGA20ox1*. Последующая культивация трансгенных линий тополя берлинского привела к утере части из них, в связи с низкой эффективностью их размножения *in vitro*. Так, из изначально отобранный 15 линий в настоящее время стабильно растут и размножаются только 6. Оставшиеся линии тополя характеризуются длинными узкими листьями, длинными междоузлиями и меньшим числом корней по сравнению с контрольными растениями. Для всех этих линий характерна увеличенная скорость роста (до 300 %) относительно контрольных растений. Одна из отобранных трансгенных линий была перенесена в грунт в условиях Фитотрона и показала скорость роста от 2 до 3 см за 24 часа.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-24-01113, https://rscf.ru/project/22-24-01113/. Авторы благодарят ЦКП «Биоаналитика» СИФИБР СО РАН за предоставленный доступ к аналитическому оборудованию.

Устойчивость галофитов литорали Белого моря к воздействию тяжелых металлов на примере *Aster tripolium* L.

Павлова М.А., Теребова Е.Н.

Петрозаводский государственный университет, пр. Ленина, 33, Петрозаводск, Россия.
mariya.leta18@gmail.com

На литораль Белого моря обитают уникальные растений - галофиты, которые постоянно находятся под влиянием приливно-отливной динамики моря. Во время приливов они проводят половину суток под водой. Такие необычные условия требуют от растений способностей к быстрой адаптации. Галофиты имеют особенности анатомического и морфологического строения, которые обеспечивают им рост и развитие (). Для них характерно явление кросс-адаптации к совместным условиям засоления и загрязнения тяжелыми металлами (). Исследования показали, что вода Белого моря загрязнена железом (Fe), никелем (Ni) и свинцом (Pb). Нами ранее было установлено, что в клеточной стенке листа и корневища галофитов Белого моря около 70% приходится на карбоксильные группы полигалактуроновых и гидроксикоричных кислот, способных связывать ионы тяжелых металлов.

Данное исследование было проведено на трех пробных площадях на литорали Белого моря в районе поселка Рабочеостровск (Республика Карелия). Соленость морской воды достигала 26‰. Грунты литоральные песчано-галечные. Объектом исследования – астра морская (*Aster tripolium L.*), доминантный вид галофитов литорали Белого моря.

В работе применялись следующие методы: определение солености воды проводили рефрактометром; содержание тяжелых металлов определяли атомно–абсорбционным методом. Коэффициент биологического поглощения металлов рассчитывали как отношение содержания металла в растении (корневище + надземные органы) к сумме его содержанию в воде и грунте. Растения астры не имели признаков интоксикации металлами (хлорозы, некрозы, пятна).

Уровень железа, никеля и свинца в морской воде превысил предельно допустимые концентрации (ПДК). Концентрация Fe составила 6,4–0,8 ПДК, Ni:16,5–14,8 ПДК, Pb:9,8–2,4 ПДК. Однако содержание этих металлов в грунтах литорали не превышало фоновые значения. Таким образом на литорали Белого моря, галофиты обитают в условиях загрязненной тяжелыми металлами морской воды.

Нами установлено, что *Aster tripolium L.* накапливает до 32 г/кг железа, что значительно превышает ПДК для растений (>0,5 г). Содержание никеля составило 66–560 мг/кг, что также превышает ПДК для растений (10-100 мг). Свинец содержался в концентрации 11–478 мг/кг при ПДК в 20-300 мг/кг. Средние коэффициенты биологического поглощения (КБП) целым растением представлены в следующем ряду: Ni(15,84)>Pb (8,21)> Fe (1,71). Значение КБП более единицы означает, что растение активно накапливает данный металл. Максимальные концентрации металла до 70% были отмечены в подземных органах астры.

Таким образом, астра солончаковая является гипераккумулятором тяжелых металлов. Высокие концентрации металлов в подземных органах говорят о том, что металлы исключаются из метаболизма растений еще на стадии поглощения. Часть из них задерживается клеточной стенкой корневища с помощью карбоксильных групп полигалактуроновых и гидроксикоричных кислот. Сверхвысокое накопление железа связано с тем, что в условиях избытка железа в морской воде при недостатке кислорода для астры становится более доступным железо Fe^{2+} из FeO комплексов литоральных грунтов, чем Fe^{3+} из Fe_2O_3 и непосредственно железо уже растворенное в морской воде, которое астра активно поглощает корневищем. За счет гипераккумуляции железа *Aster tripolium* L на литорали Белого моря является участником биогеохимического круговорота железа и основными сайтом его фиксации в системе берег–море.

Влияние цистеина и мексидола на антиоксидантный статус и относительную засухоустойчивость растений пшеницы

Пахомова В.М., Даминова А.И.

ФГБОУ ВО «Казанский государственный аграрный университет», ул. Ферма-2, 53, Казань, Россия.
pahomovav@mail.ru

Исследование антиоксидантного (АО) статуса клеток растений в норме и при действии стрессоров различной природы является одним из бурно развивающихся разделов современной физиологии и биохимии растений, связанным с изучением механизмов устойчивости и продуктивности. Увеличение образования активных форм кислорода (АФК) в клетках в неблагоприятных условиях существования приводит к активации окислительных процессов, в том числе перекисного окисления липидов (ПОЛ). Интенсификация ПОЛ может привести к изменению свойств липидного матрикса мембран и модификации метаболизма всей клетки, однако его воздействие существенно ограничивается за счет работы антиоксидантной системы (АОС), включающей ферменты и низкомолекулярные соединения. Это обусловливает несомненную значимость исследований взаимосвязи изменений продукции АФК, ПОЛ, работы АОС при действии тех или иных стрессоров, а также поиска (скрининга) веществ, обладающих АО-действием. Важным свойством синтетических и природных антиоксидантов, введенных в клетку извне, является их способность восполнять недостаток эндогенных антиоксидантов. На этом и основано их практическое применение в медицине, животноводстве и растениеводстве. Целью данной работы явилось изучение влияния мексидола (2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцината) и L-цистеина (α-амино-β-тиопропионовая кислота; 2-амино-3-меркаптопропановая кислота) на антиоксидантный статус, относительную засухоустойчивость и избирательную проницаемость мембран клеток проростков пшеницы. Мексидол и цистеин являются отечественными оригинальными препаратами, успешно применяемыми в антиоксидантной терапии животных и человека. Объектом исследования служили 10-дневные проростки яровой пшеницы *Triticum aestivum L.* (сорта Йолдыз). Семена пшеницы замачивали на 1 сутки в водопроводной воде и затем высевали на стекло, покрытое влажной марлей и помещенное в кювету с 0,25 мМ $CaCl_2$. Затем 5-дневные проростки переносили на среды, содержащие $5 \cdot 10^{-4}$ М данных соединений и выращивали при комнатной температуре и освещении в течение 5 суток. Контролем служили растения, выращиваемые на 0,25 мМ $CaCl_2$. При подготовке к опыту растения с корнями легко извлекались без повреждений. Анализировали по 10 растений в 3-4-кратной повторности. Относительную засухоустойчивость определяли по содержанию хлорофилла после помещения высечек листьев в 17% раствор сахарозы. Рассчитывали отношение (в процентах) концентрации пигментов в высечках на растворе осмотика к концентрации их на воде в контроле ([Схл] в сахарозе/[Схл] в воде). Перекисное окисление липидов характеризовали по образованию малонового диальдегида (МДА). Активность супероксиддисмутазы (СОД) определяли по способности фермента ингибировать фотохимическое восстановление нитросинего тетразолия; за единицу активности (ЕА) СОД принимали количество препарата, способного подавить реакцию восстановления нитросинего тетразолия на 50%. Содержание растворимого белка определяли по методу Брэдфорда. О выходе K^+ из клеток отсеченных корней проростков судили по изменению его количества в инкубационной среде (0,25 мМ $CaCl_2$). Измерения K^+ проводили на пламенном фотометре. Показаны рост активности фермента АО-защиты клеток СОД, снижение ПОЛ (судя по уменьшению образования МДА), стабилизация мембран (судя по уменьшению утечки эндогенного калия в среду инкубации отсеченных корней, в том числе и при действии мембранотропного соединения тритона Х-100), а также увеличение относительной засухоустойчивости проростков пшеницы под влиянием изучаемых препаратов. Не вызывает сомнения, что установленные положительные эффекты мексидола и цистеина связаны с их антиоксидантным механизмом действия. Мексидол проявлял наибольшее положительное влияние.

«Whole-body» имиджинг изменения цитозольного pH и параметров PAM-флуориметрии вследствие засоления у растений *Solanum tuberosum* и *Nicotiana tabacum*

Печёрина А.А., Агеева М.Н., Занегина Д.А., Гринберг М.А., Воденеев В.А., Брилкина А.А.

Нижегородский государственный университет им Н.И. Лобачевского. Гагарина пр., 23, Нижний Новгород, Россия.
pechyorinaa@gmail.com

Засоление является одним из важнейших стрессирующих факторов, влияющим на рост, развитие и производительность сельскохозяйственных культур. На перечисленные параметры могут оказывать влияние уровень цитозольного pH и параметры фотосинтеза (PAM-флуориметрии), которые меняются в начале действия стрессоров. От уровня pH цитозоля зависят активность клеточных белков, мембранный транспорт, целостность компартментов и протекание окислительно-восстановительных реакций. Кроме этого, уровень pH может составлять свою собственную протонную сигнальную систему, которая вместе с сигнальными системами кальция, АФК и электрических потенциалов могут передавать сигнал о стрессоре фотосинтетическому аппарату, в результате чего параметры фотосинтеза могут меняться. Анализ уровня pH может быть осуществлен с помощью генетически-кодирующих сенсоров, к которым относится ратиометрический флуоресцентный pH-сенсор Pt-GFP. Этот белок обладает двумя пиками на спектре поглощения флуоресценции (390 и 475 нм), величина которых зависит от pH среды: при низком pH выражены оба пика; при защелачивании pH пик при 395 нм сглаживается, а при 475 нм возрастает. PAM-флуориметрия уже несколько десятилетий может быть осуществлена на уровне целого организма, однако визуализация уровня pH и других аналитов с помощью генетически кодируемых сенсоров долгое время производилась на отдельных клетках и тканях с применением высокоразрешающей ЛСМ-микроскопии. Тем не менее при оставшейся популярности ЛСМ-микроскопии развиваются методы «whole-body» имиджинга, которые позволяют выявлять пространственно-временную динамику изменения pH.

Целью данной работы было исследование изменения цитозольного pH и параметров PAM-флуориметрии растений картофеля и табака при засолении. В работе использовали растения с pH-чувствительным сенсором Pt-GFP: табака (*N. tabacum*) возрастом 4 недели, выращенного в почвогрунте, и картофеля (*S. tuberosum*), возрастом 4 недели, который сначала культивировали в условиях *in vitro*, а затем – 7 дней в гидропонных условиях.

Для получения калибровочной зависимости сенсора от pH получали флуоресцентные изображения частей листьев табака и стеблей картофеля в установке оптического имиджинга и PAM-флуориметрии PlantExplorerPro+ (PhenoVation, The Netherlands) или в установке оптического имиджинга DVS-03 (ИФТ РАН, Россия) соответственно. Возбуждение флуоресцентного сенсора в растении осуществляли при 390-405 и 470-490 нм, флуоресценцию принимали в диапазоне 505-525 нм. Перед съёмкой части растения предварительно инкубировали 3 (картофель) или 6 (табак) часов в буферных растворах с pH от 4,0 до 9,0, содержащих 250 мкМ протонофора карбонилцианид м-хлорфенилгидразона (КЦХФГ). Далее изображения обрабатывали в программе ImageJ и рассчитывали значения отношения испускаемой флуоресценции.

Растения табака в горшках с хорошо увлажнённой почвой, стоящих в поддонах, подвергались обработке раствором 400 мМ NaCl и последующему трехдневному мониторингу в установке PlantExplorerPro+ (PhenoVation, The Netherlands), в которой производили измерения в листьях параметров: флуоресценции фотосистемы II в адаптированном к темноте состоянии (Fv/Fm), эффективного квантового выхода фотосистемы II (Fq'/Fm'), скорости переноса электронов (rETR), нефотохимического тушения флуоресценции (NPQ), фотохимического тушения флуоресценции (qP), нормализованного вегетационного индекса (NDVI) и флуоресценции Pt-GFP при освещении диодами 470 нм и 405 нм.

Растения картофеля, корни которых были погружены в пластиковую чашку Петри, подвергались обработке раствором 200 мМ NaCl и мониторингу в течение 8 часов после начала засоления. Флуоресценция Pt-GFP в стеблях растений картофеля фиксировалась в установке DVS-03 (ИФТ РАН, Россия) с возбуждающими светодиодами 395/25 нм и 490/20 нм. Регистрацию параметров PAM-флуориметрии осуществляли с помощью MINI-PAM (Walz, Germany).

Засоление приводит к закислению цитозоля: у табака на второй день мониторинга, у картофеля через 3-4 часа в участках стебля, самых близкий к корню. И у картофеля, и у табака наблюдалась волна распространения изменения pH по растению: у картофеля - по стеблю от корня к вершине, у табака – от листа, расположенного ближе к корню, к самому последнему листу. При засолении параметры PAM-флуориметрии также изменялись, что особенно было заметно у параметров Fv/Fm и Fq'/Fm', которые, например, у табака снижались через 12 часов после начала засоления.

Поддержано НЦМУ «Центр Фотоники», при финансировании Министерством науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075-15-2020-927.

Влияние ионизирующего излучения разных типов на морфологические и фотосинтетические показатели ячменя обыкновенного.

Празян А.А., Подлуцкий М.С., Макаренко Е.М., Лыченкова М.А., Волкова П.Ю.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии», 249032, Калужская область, г. Обнинск, Киевское шоссе, 109 км.
prazyana@yahoo.com

Объектом исследования являлся ячмень обыкновенный (*Hordeum vulgare* L.) сорта Фокс 1 (озимый ячмень), так как он обладает достаточным генетическим разнообразием для использования в качестве объекта исследования в данной работе. Сертифицированные семена всех сортов предоставлены ФГБНУ «АНЦ «Донской» (Зерноград, Россия), урожай 2019 года.

В эксперименте использовали 20 вегетационных сосудов: 4 контрольных сосуда и по 4 сосуда для каждого типа ионизирующего излучения (ИИ) (γ-излучение, электроны, нейтроны, протоны).

Источником γ-излучения являлась установка «Агат» (Россия) с изотопом ^{60}Co и дозой 15 Гр. (0,93 Гр/мин).

Источником электронного излучения являлся терапевтический интраоперационный линейный ускоритель электронов NOVAC11 (Италия). Доза 15 Гр. (0,0388 Гр/МЕ).

Облучение нейтронами проводили на стенде с нейтронным генератором НГ-14 (Россия) с дозой 5 Гр.

Облучение протонами в дозе 15 Гр проводили на комплексе протонной терапии «Прометеус» (Россия).

Все растения, за исключением контрольных, проходили облучение на 7-й день после посадки.

После облучения ежедневно отслеживали смену фенологических фаз проросших растений. Оценка микрофенологических фаз проводилась путем определения стадий развития ячменя. Основой для определения стадий по выбранной шкале являются видимые невооруженным глазом признаки образования органов. Для каждого сосуда фиксировали количество растений в той или иной стадии развития.

Оценку флуоресценции хлорофилла проводили на 7-й день прорастания после облучения с помощью флуориметра MultispeQ V 2.0 (США). С помощью флуориметра были оценены основные параметры флуоресценции, включающие показания о максимальной/минимальной переменной флуоресценции в различных условиях и фазах, скорости потока протонов через АТФ-синтазу хлоропластов, различные показатели фотосистемы I и II и другие.

Оценку биомассы производили на 14 день после облучения на аналитических весах OHAUS (США). Из каждого вегетационного сосуда извлекали растения, очищали от почвы и взвешивали.

Обработку данных о микрофенологических фазах, анализ показателей флуоресценции хлорофилла и параметров урожайности проводили с помощью Microsoft Office Excel 2019. Значимость различий между облученными и контрольными растениями оценивали с помощью U-критерия Манна-Уитни в Statistica 10.0.

Из полученных результатов было выяснено, что растения контрольной группы отличались ускоренной динамикой смены фенологических фаз, по сравнению с растениями, подверженными действию ИИ, которые существенно замедлили темп развития. На 14-й, последний, день наблюдения отмечено, что растения контрольной группы не только быстрее развивались в пределах одной макростадии развития, но и перешли к кущению, что не наблюдалось ни для одного вегетационного сосуда с облученными растениями.

При сравнении массы растений через 14 дней роста после облучения отмечено ее статистически значимое снижение для всех типов ИИ по сравнению с контролем.

После проведения оценки фотосинтетического аппарата растения выяснено, что в облученных нейтронами растениях были отмечены значимые отличия по параметру vH+ (протонная проводимость АТФ-синтазы хлоропластов) в сравнении с контрольными растениями. Растения, облученные электронами, также характеризуются изменениями по этому показателю, а также дополнительно наблюдаются изменения в работе первой фотосистемы. Это проявляется в значимых отличиях от контроля в показателях PS1 Over Reduced Centers и PS1 Oxidized Centers.

Наиболее интересны данные анализа флуоресценции хлорофилла растений, облученных протонами. Отмечены изменения в теплообмене листа с окружающей средой (Leaf Temperature Differential). В данном случае листья статистически значимо теплее контрольной группы. Для этой группы также обнаружены статистически подтвержденные различия между 4-мя показателями: FvP_over_FmP (Fv/Fm), LEF, NPQt и PhiNPQ.

Таким образом, функционирование фотосинтетического аппарата после облучения протонами значимо нарушено по сравнению с контрольной группой. Наибольшие повреждения фотосинтетической системы были характерны для растений, облученные протонами и электронами. Все облученные растения характеризовались замедлением темпов развития и сниженной биомассой по сравнению с контрольными необлученными растениями. При этом растения все же продолжили свое развитие, что свидетельствует о работе адаптивных механизмов.

Результаты получены при финансовой поддержке Российской Федерации в лице Министерства науки и высшего образования РФ (Соглашение № 075-15-2021-1068 от 28.09.2021).

Влияние вырубки на рост и показатели обменных процессов древесных растений в условиях Европейского Севера

Придача В.Б., Тарелкина Т.В., Семин Д.Е., Пеккоев А.Н., Неронова Я.А., Туманик Н.В., Сазонова Т.А.

Институт леса КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН», Пушкинская, 11, Петрозаводск, Россия.
pridacha@krc.karelia.ru

В настоящее время рубка леса является определяющим фактором трансформации лесных сообществ на большей части таежных территорий. Динамичность процессов, происходящих на вырубках в основном под влиянием естественных факторов, делает их хорошим модельным объектом для изучения реакции растений на изменения внешней среды. Лесные экосистемы Европейского Севера, в частности Карелии, представлены преимущественно сосновой (*Pinus sylvestris* L.), еловой (*Picea abies* (L.) Karst.), березовой (*Betula pendula* Roth и *B. pubescens* Ehrh.), осиновой (*Populus tremula* L.) и сероольховой (*Alnus incana* (L.) Moench) формациями. Этот факт создает возможность проведения межвидовой оценки адаптивного потенциала растений в естественных условиях произрастания, что представляет особую ценность при прогнозировании возможного отклика как отдельного вида, так и лесной экосистемы в целом на изменения природной среды и климата. В этой связи проведено комплексное исследование структурно-функциональных показателей одновозрастного подроста хвойных (*Pinus sylvestris* L.) и лиственных видов (*Betula pendula* Roth, *Alnus incana (*L.) Moench, *Populus tremula* L.) древесных растений в условиях вырубки и среднетаежного сосняка черничного свежего (Южная Карелия) в течение четырех вегетационных периодов. У разных видов выявлена преимущественно схожая реакция анатомических и гидравлических характеристик ксилемы ствола и показателей CO_2/H_2O-газообмена листа на изменение фитоценотических условий и климатических факторов. Показаны однонаправленные изменения удельного содержания биогенных элементов и емкости биологического поглощения макроэлементов. Видоспецифичность реакции в меняющихся условиях отмечена для соотношений биогенных элементов, фотосинтетической эффективности использования воды и азота. Кроме того, установлены межвидовые особенности согласованности гидравлических характеристик ксилемы и устьичной проводимости, интенсивности фотосинтеза и транспирации, и их вариабельности у систематически разных видов, которые указывают на разные стратегии гидравлического поведения (isohydric/anisohydric) древесных растений в условиях гетерогенной среды. Результаты исследования важны для понимания ключевых механизмов влияния условий внешней среды на рост и показатели обменных процессов древесных растений при изменяющихся климатических условиях в лесных экосистемах с разной степенью антропогенной нарушенности.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (Институт леса КарНЦ РАН) и при финансовой поддержке РФФИ (грант 17-04-01087-а).

Влияние различных абиотических факторов на изменение содержания фотосинтетических ферментов у C_4 факультативного галофита *Kochia prostrata*

Прокофьева М.Ю., Шуйская Е.В., Саидова Л.Т.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Ботаническая ул., 35, Москва, Россия.
maria.vdovitchenko@gmail.com

Рибулозо-1,5-бисфосфат карбоксилаза/оксигеназа (Рубиско) имеет решающее значение в регуляции фотосинтеза в листьях как C_3, так и C_4 видов растений. Кратковременная реакция Рубиско на абиотические стрессы не ясна, так как различные исследования дают противоречивые результаты. Снижение активности и/или количества Рубиско наблюдалось у нескольких различных видов C_3 и C_4 растений в условиях засухи, повышенной температуры и концентрации CO_2, у гликофитов и некоторых галофитов – в условиях засоления. В то же время есть свидетельства повышения активности и/или количества Рубиско у галофитов при разных уровнях засоления. Считается, что фосфоенолпируваткарбоксилаза (ФЕПк) менее чувствительна к сверхоптимальной температуре, но более чувствительна к засолению, в частности у C_4 гликофитов. Во время солевого стресса хлоропласты подвергаются воздействию относительно высоких концентраций Na^+ и Cl^- в цитозоле. Однако современные знания о том, как хлоропласты при этом регулируют ионный гомеостаз Na^+, Cl^- и K^+, ограничены, а понимание механизмов, с помощью которых галофиты оптимизируют перенос ионов и фотосинтез, имеет большое значение.

Многие C_4 растения произрастают в аридной зоне на засоленных почвах, где, благодаря высоким значениям эффективности использования воды, углерода и азота, они проявляют более высокие фотосинтетические и ростовые показатели. Однако среди них есть и факультативные галофиты, способные продуктивно расти на незасоленных почвах. На примере растений C_4 факультативного галофита *Kochia prostrata* (сем. Chenopodiaceae) с помощью иммуноферментного анализа исследовали изменение содержания фотосинтетических ферментов (Рубиско и ФЕПк) в ответ на 4-дневное воздействие различных абиотических факторов: повышенная температура (32ºС), слабое (100 мМ NaCl) и умеренное засоление (200 мМ NaCl), умеренная ПЭГ-индуцированная засуха (ψ_s = –0.3 МПа), повышенная концентрация CO_2 (800 ppm). При выращивании растений без добавления NaCl наблюдалось схожее увеличение содержания Рубиско (в 1.5–3.0 раза) при воздействии каждого фактора, по сравнению с контролем. Изменение содержания ФЕПк было более разнообразным – от снижения на 50% (при действии засухи) до увеличения в 10 раз (при действии 100 мМ NaCl). Добавление оптимального для роста данного вида количества 50 мМ NaCl при выращивании растений нивелировало эффект увеличения содержания Рубиско в условиях повышенной концентрации CO_2 и значительно снижало содержание Рубиско и ФЕПк при действии засухи и повышенной температуры.

Сравнение метаболомов листьев гидрофитов и мезофитов Ленинградской области

***Пузанский Р.К.*[*], *Смирнов П.Д.*[**], *Ванисов С.А.*[**], *Дубровский М.Д.*[**], *Буторлин О.С.*[**], *Емельянов В.В.*[**]**

[*] Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, ул. Профессора Попова, 2, Санкт-Петербург, Россия;
[**] Санкт-Петербургский государственный университет, Университетская наб., 7/9, Санкт-Петербург, Россия.
bootika@mail.ru

Выяснение механизмов адаптации растительных организмов к изменяющимся условиям среды обитания является важнейшей проблемой современной биологии растений. Растения являются облигатными аэробами. Тем не менее, часто они могут оказаться в среде с пониженной концентрацией кислорода (гипоксия) или его полным отсутствием (аноксия). От дефицита кислорода нередко страдают посевы сельскохозяйственных культур и растения природных экосистем, обитающие в условиях постоянного переувлажнения или непосредственно в водной среде. Способность адаптироваться к кислородной недостаточности связана с наличием различных приспособлений, многие из которых опосредованы существенными изменениями обмена веществ. Эти изменения позволяют устойчивым растениям-гидрофитам вырабатывать достаточное количество энергии, поддерживать водное и минеральное питание и даже расти в дефицитной по кислороду среде. Большинство знаний о метаболических перестройках получены методами конвенциональной биохимии, когда целевым способом изучалось содержание того или иного метаболита или их группы. В подобной ситуации за рамками исследования могли оказаться существенные изменения уровня других соединений, которые не были изначальной целью анализа. Для решения этих проблем в настоящее время применяются методы системной биологии, в частности, методы метаболомики. Целью настоящей работы являлось проведение ненаправленного метаболомного профилирования листьев дикорастущих растений-гидрофитов, обитающих в водной среде, и родственных им мезофитных видов, произрастающих в биотопах с нормальным обеспечением кислородом. В качестве гидрофитов анализировали ирис ложноаировый (болотный, *Iris pseudacorus* L.) и сабельник болотный (*Comarum palustre* L.), в качестве мезофитов использовали ирис сибирский (*I. sibirica* L.) и лапчатку гусиную (*Potentilla anserina* L.). Листья растений собирали в местах их естественного произрастания. Профилирование проводили на основе ГХ-МС анализа с использованием газового хроматографа Agilent 5860. Регистрацию хроматограмм осуществляли с помощью масс-селективного детектора Agilent 5975C. Полученные хроматограммы обрабатывались с помощью ресурса GNPS. Для идентификации масс-спектров была применена программа NIST MSEARCH, в сочетании с библиотеками NIST17, Санкт-Петербургского государственного университета и Ботанического института РАН. Идентификацию метаболитов осуществляли по сходствам масс-спектров с библиотечными (net match factor $\geq$ 800) и индексам удерживания. Определение индексов удерживания проводили по калибровке, используя предельные углеводороды. Содержание метаболитов нормировали на внутренний стандарт трикозан. Математический анализ проводили в среде языка R 4.4

В метаболоме листьев ирисов обнаружено 634 соединения. Из них по базам масс-спектров было идентифицировано 63 индивидуальных соединения и еще 93 соединения были идентифицированы до класса. Самой широко представленной группой были сахара (92), включая гексозы (37), пентозы (4) и олигосахариды (51). Также были идентифицированы около 15 органических кислот, 5 жирных кислот и их производных, а также 10 аминокислот. Были обнаружены стерины, вторичные соединения, спирты и другие соединения. Суммарно полученный профиль метаболитов *P. anserina* и *C. paluste* насчитывал около 600 масс-спектров. Из них было идентифицировано 50 и еще примерно 60 - до класса. Как и в случае ирисов, самой большой группой были сахара, в том числе 17 пентоз, 26 гексоз, 34 олигосахарида. Обращает на себя внимание лишь очень небольшое количество аминокислот (5). В тоже время количество карбоксилатов было выше, чем в предыдущем случае (более 20). Также идентифицированы жирные кислоты и их производные (5), стерины, и ряд вторичных соединений. На основе полученных результатов были составлены тепловые карты, а также составлены графики матриц счетов, полученных методом главных компонент (PCA), которые были подтверждены кластерным анализом по методу Варда и дискриминантным анализом ортогональными проекциями на латентные структуры (OPLS-DA). Показано, что гидрофиты характеризовались большим накоплением карбоксилатов, например, 2-оксоглутарата, сукцината, фумарата и малата, мажорных гексоз (глюкоза, фруктоза) и таких аминокислот, как ГАМК и оксопролин, а также меньшим уровнем соединений, связанных с липидным метаболизмом, таких как стеариновая кислота. Вторичные соединения показывали разнонаправленные тренды, с доминированием катехина у мезофильных видов. Сравнительный анализ метаболомов гидрофитных и мезофитных растений выявил накопление в первой группе дикарбоновых кислот цикла Кребса, а для второй – катехина. В целом обращение дикарбоновой части цикла Кребса характеризует стимуляцию аноплеротических путей реокисления НАД(Ф)Н, препятствующих аккумуляции токсичных анаэробных метаболитов при адаптации к затоплению. Таким образом, анализ с применением ГХ-МС впервые выявил своеобразие метаболомных профилей листьев каждого из исследованных видов растений, которые можно использовать в хемотаксономии. В то же время были обнаружены характерные особенности метаболомов растений, обитающих в условиях дефицита кислорода (гидрофитов), и луговых растений (мезофитов), независимые от таксономической принадлежности.

Исследование поддержано РНФ № 22-24-00484.

Роль редокс-регуляции фотосинтетического аппарата в формировании ответных реакций томатов при фузариозном увядании

***Пшибытко Н.Л.*[*], *Лысенко Е.А.*[**], *Демидчик В.В.*[*]**

[*] Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, Минск, Беларусь;
[**] Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Ботаническая ул., 35, Москва, Россия.
pshybytko@bsu.by

Инфицирование растений возбудителями болезней приводит к значительным потерям урожая и снижению качества сельскохозяйственной продукции. Возбудители фузариозного увядания относятся к числу почвенных патогенов, которые хорошо защищены от воздействия внешних факторов как в сапрофитной фазе своего развития в почве и на растительных остатках, так и находясь в сосудистой системе растений в период вегетации. В условиях специализации и концентрации производства отрицательная роль почвенных инфекций возрастает, так как высокая насыщенность площадей основной культурой приводит к существенному накоплению инфекции в почве. Поэтому фузариозное увядание овощных культур, возделываемых в закрытом грунте, получило значительное распространение. В представленной работе исследованы механизмы патогенеза растений томата после заражения *Fusarium oxysporum*, оценено структурно-функциональное состояние фотосинтетического аппарата в инфицированных растениях, а также изучена роль редокс-состояния переносчиков электронов хлоропластов в формировании ответной реакции растений при биотическом стрессе. Установлено, что гибель растений при фузариозном увядании наступает в результате окислительного стресса, индуцированного водным дефицитом и токсинами *Fusarium oxysporum*. Повышение уровня пероксида водорода при фузариозном увядании томатов также сопровождалось накоплением протекторных веществ (антоцианов, осмолитиков) и PR-белков. Показана возможность двух типов подавления фотосинтетической активности растений томата при фузариозном увядании. При первом типе увядания наблюдалось изменение протекания как световой, так и темновой стадий фотосинтеза. С использованием методов индукции флуоресценции хлорофилла *a*, CO_2-газообмена и по включению радиоактивной метки ^{14}C в кислотоустойчивый продукт реакции карбоксилирования показано падение эффективности реакций светосбора, разделения зарядов в реакционном центре ФС2, подавление электронного транспорта на акцепторной стороне ФС2, снижение активности рибулозо-1,5-бисфосфат–карбоксилазы (РБФК). В случае быстрого увядания томатов после иннокуляции *Fusarium oxysporum* наблюдалось главным образом подавление фотохимической активности хлоропластов. При этом снижение скорости линейного электронного транспорта в листьях томатов было обусловлено, главным образом, ингибированием электронного потока на акцепторной стороне ФС2, изменением редокс-состояния пластохинонового пула.Корневая предобработка растений томата H_2O_2 в малых концентрациях приводила к повышению уровня эндогенного пероксида водорода и повышению устойчивости растений к *Fusarium oxysporum*, препятствуя развитию водного дефицита, снижая скорость деструктивных процессов и активизируя протекторные системы и синтез защитных белков. Показана взаиморегуляция уровня пероксида водорода и редокс-состояния пластохинонового пуля при развитии патогенеза и предобработки растений пероксидом водорода.

Разработка модели фотосинтетических процессов при световом и температурном стрессе

Ратницына Д.А., Сухова Е.М., Сухов В.С.

Университет Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23.
Dasha-lola1997@mail.ru

Растения обитают в сложной среде, где происходит постоянное изменение условий, включая колебания интенсивности освещения, изменения температуры окружающей среды, модификация доступности воды и многие другие. Такие изменения параметров среды, которые часто имеют стрессирующий характер, оказывают воздействие на широкий спектр физиологических процессовы у растений. При этом, одним из основных процессов растения, подверженных воздействию стрессоров, является фотосинтез. Исследование стрессовых изменений фотосинтеза является важной задачей для выявления механизмов адаптационных ответов растения на действие неблагоприятных факторов и для развития методов сохранения продуктивности растений.

Одним из перспективных неинвазивных методов исследования влияния факторов окружающей среды на фотосинтез растений является математическое моделирование. Этот метод позволяет уменьшить время исследования и сократить количество экспериментов; кроме того, математическое моделирование фотосинтеза позволяет провести анализ процессов, которые недоступны для экспериментального изучения.

Относительно простой и широко используемой моделью для анализа фотосинтетической ассимиляции CO_2 является модель Farquhar-von Caemmerer-Berry (FvCB). Такая модель включает в себя описание работы основного фермента темновой стадии – РУБИСКО, а также упрощенное описание световой стадии фотосинтеза, что позволяет моделировать базовые взаимодействия основных фотосинтетических процессов. Ключевым допущением модели FvCB является то, что стационарная скорость ассимиляции CO_2 описывается как равная самому медленному из основных фотосинтетических процессов, которые лимитируют фотосинтез и учитываются в модели. В рамках нашей модификации модели FvCB, это прежде всего, фиксация углекислого газа при работе РУБИСКО; при этом активности других ферментов цикла Кальвина принимаются намного более быстрыми и вследствие этого не учитываются при моделировании. Вторым лимитирующим процессом является регенерация РУБИСКО посредством энергетических эквивалентов, синтезированные в ходе световой стадии; такая регенерация определяется скоростью нециклического потока электронов в электрон-транспортной цепи. В разрабатываемой модели также учтено воздействие стрессоров на фотосинтез, которое описано посредством введения коэффициентов повреждения световой стадии. Модель также учитывает температурные зависимости скоростей протекания световой и темновой стадии фотосинтеза. Разработанная модель была детально параметризирована на основании экспериментальных данных с использованием растений гороха.

В ходе анализа было, прежде всего, показано, что модель описывала повреждение фотосинтетических процессов даже при незначительное воздействии светового стрессора (низкая интенсивность освещения), что хорошо согласуется с экспериментальными данными, полученными на проростках гороха. Далее был проведен анализ развития светового повреждения при различных температурных условиях. Было показано, что при повышении температуры выше оптимальной развивалось повреждение фотосинтетических процессов; при этом эффект наблюдался как при низких, так и при высоких интенсивностях освещения. Важно отметить, что модель показывала снижение величины температурного повреждения фотосинтетических процессов после повышения температуры до определенного уровня. При этом было выявлено, что при низких интенсивностях освещения выявленный уровень температуры снижался по сравнению с аналогичным уровнем температуры при высокой интенсивности освещения. Полученный результат показал возможность положительного влияния повышенной температуры на устойчивость фотосинтетического аппарата к избыточному освещению. Следует, однако, отметить, что важным допущением модели является отсутствие непосредственного повреждающего влияния изменений температуры; т.е. при таких изменениях температуры в фотосинтетическом аппарате развиваются только обратимые повреждения и не происходит разрушения белков. Эта особенность модель накладывает ограничения на температурные рамки ее применимости.

Таким образом, теоретический анализ повреждения фотосинтетических процессов при действии неоптимальных температуры показывает, что при действии повышенных температуры (35-42◦C) может наблюдаться парадоксальная зависимость такого повреждения (снижение индуцированного освещением повреждения при росте температуры).

Работа выполнена при финансовой поддержки Российского фонда фундаментальных исследований, проект 20-34-90086 Аспиранты.

Разнообразие стерин-зависимых механизмов солеустойчивости в клетках галофитов: роль Δ 5-, Δ 7-стигмастеринов и станолов

***Розенцвет О.А.*[*], *Котлова Е.Р.*[**], *Нестеров В.А*[*]. *Богданова Е.С.*[*], *Сеник С.В.*[**], *Шаварда А.Л.*[**]**

[*] Самарский федеральный исследовательский центр РАН, Институт экологии Волжского бассейна РАН, ул. Комзина, 10, Тольятти, Россия;
[**] Ботанический институт им. В.Л. Комарова, ул. Професора Попова, 2, Санкт-Петербург, Россия.
olgarozen55@mail.ru

Свободные стерины являются неотъемлемой частью эукариотических мембран. Межмолекулярные взаимодействия между стеринами и мембранными глицеро- и сфинголипидами модулируют физическое состояние мембран, ограничивая подвижность ацильных цепей, тем самым регулируя мембранную текучесть и проницаемость. Характерной особенностью растительных стеринов (фитостеринов) является их структурное многообразие. Обычно свободные стерины растений содержат 28 (эргостановые) или 29 (стигмастановые стерины) атомов углерода и одну или две двойные связи – в стерановом ядре (в Δ5 или, реже, в Δ7 положении) и, у отдельных молекулярных видов, в алкильной боковой цепи (обычно между C22-C23 или C24-C28). Соединения с насыщенным ядром (Δ0) называются станолами и рассматриваются как подгруппа растительных стеринов. Для большинства видов растений доминирующими являются Δ5-серины, в том числе β-ситостерин, стигмастерин и кампестерин. Этапы биосинтеза фитостеринов, связанные с образованием Δ7- и Δ5-стеринов, протекают на мембранах ЭПР и включают последовательные этапы Δ7-десатурации, Δ5-десатурации и Δ7-редукции, причем Δ5-десатурация помимо ЭПР может осуществляться в липидных включениях, а Δ7-редукция может быть приурочена к плазматической мембране. Образование станолов, связанное с Δ5-редукцией, является терминальным этапом биосинтеза стеринов. Последовательность реакций, лежащих в основе структурного разнообразия стероидного ядра, можно схематически представить как Δ7→ Δ5,7→ Δ5→ Δ0.

Состав стеринов зависит не только от систематического положения растения, но и от распределения в отдельных органах, тканях, клеточных компартментах. Соотношение молекулярных видов стеринов может меняться в процессе роста и развития растений, а также в условиях действия различных стрессоров. Показано, что действие абиотических и биотических факторов может приводить к увеличению соотношения стигмастерин/β-ситостерин, что позволило рассматривать стигмастерин в качестве универсального «стрессового» стерина. Мы предположили, что другим механизмом адаптации с участием определенных молекулярных видов стеринов может быть изменение соотношения Δ5-, Δ7-стеринов и станолов, физико-химические свойства которых имеют целый ряд существенных отличий. Изучение реализации данного механизма *in vivo* и *in situ* возможно путем сравнения экологических групп растений, сформировавших в ходе эволюции различные способы приспособления к одному фактору (от метаболических до морфологических). Удобной моделью для подобных исследований могут служить различные экологические группы галофитов, многие виды которых аккумулируют Δ5-, Δ7-стерины и станолы.

В настоящей работе исследовано структурное разнообразие стеринов в листьях 21 вида дикорастущих галофитов. Изученные виды принадлежали к четырем семействам (Asteraceae, Chenopodiaceae, Plumbaginaceae, Tamaricaceae) и трем экологическим группам: эугалофитам (Eu), рекретофитам (Re), эксклюдерам (Ex). Методами хромато-масс спектрометрии идентифицировано пятнадцать молекулярных видов стеринов, принадлежащих к трем основным группам: Δ5-, Δ7- и Δ0- стеринам. Проведенный анализ показал, что для видов рода Artemisia характерно высокое содержание стигмастерина (30–49% от общего содержания стеринов). У двух видов рода Limonium преобладающим был β-ситостерин. Для видов сем. Chenopodiaceae характерна способность к накоплению как Δ5- и Δ7-стеринов, так и станолов. Содержание доминирующей группы Δ5-стеринов уменьшается в ряду Ex → Re → Eu. Соединения с насыщенным стероидным ядром (Δ0) обнаружены только у галофитов, реализующих солеаккумулирующие и солевыделяющие стратегии, что может рассматриваться как адаптивный механизм, характерный для таксонов, объединенных сходными условиями обитания. Наряду с этим нами обнаружены структурные изомеры стигмастерина в группах Δ7-стеринов и станолов, а именно стигмаста-7,22-диен-3*β*-ол (спинастерин) и стигмаст-22-ен-3*β*-ол (22-стигмастенол). Установлено также, что соотношение стигмастерин/β-ситостерин зависит от стратегии солеустойчивости. У солевыделяющих растений наблюдается увеличенное соотношение Δ5-стигмастерин/Δ5-β-ситостерин, а у солеаккумулирующих – помимо увеличения значения данного соотношения наблюдалось увеличение соотношения спинастерин/Δ7-ситостерин и 22-стигмастенол/ситостанол. Полученные данные представляют собой новый этап в развитии известного тезиса об универсальной роли стигмастерина в ответной реакции растений на действие абиотических и биотических факторов.

Таким образом, многообразие видов растительных стеринов и вариабельность их соотношений лежит в основе механизма участия стеринового компонента мембран в ответных реакциях растений на условия произрастания. Механизмы защиты от соли включают изменение соотношения Δ5-, Δ7-стеринов и станолов, а также аккумуляцию молекулярных аналогов стигмастерина.

Повышение урожайности, пищевой ценности и снижение содержания нитратов у микрозелени четырех видов семейства *Brassicaceae* при круглосуточном освещении

Рубаева А.А., Шерудило Е.Г., Шибаева Т.Г.

ФИЦ «Карельский научный центр РАН», Институт биологии, ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Россия.
shibaeva@krc.karelia.ru

Микрозелень является относительно новой культурой, которая благодаря пищевой ценности, связанной с высокой концентрации антиоксидантов и микроэлементов, стала трендом мировой кулинарии и здорового питания. Выращивание микрозелени является привлекательным для производителей из-за растущего спроса и высокой рыночной стоимости. Однако, она имеет ограниченный срок хранения после сбора урожая, поэтому местное производство, особенно свежесрезанной продукции, представляет собой наиболее важную производственную стратегию. Микрозелень выращивают в теплицах и на фабриках растений, где естественное освещение дополняется или полностью заменяется искусственным освещением. Искусственное освещение для выращивания растений является дорогостоящим, поэтому постоянно ведется поиск решений, направленных на повышение эффективности преобразования энергии в урожайность и качество. Одним из возможных способов повышения светоотдачи является круглосуточное освещение. Теоретически, использование круглосуточного освещения обеспечивает постоянную энергию для ассимиляции углерода, что означает большее накопление биомассы.

Целью настоящей работы было изучить влияние круглосуточного освещения на урожайность и качество продукции микрозелени четырех видов семейства *Brassicaceae*. Кроме того, задачей работы было выявить различия в реакции растений на круглосуточное освещение при разном и одинаковом интеграле дневного освещения (ИДО), получаемого растениями при фотопериодах 16 и 24 ч, чтобы понять, связаны ли эффекты с различиями в ИДО или с продолжительностью фотопериода.

Объектами исследования служили брокколи (*Brassica oleracea* var. *italic* Plenck), мизуна (*Brassica rapas sp. nipposinica* (L.H.Bailey) Hanelt), редис (*Raphanus sativus* var. *radicula* Pers.) и рукола (*Eruca vesicaria ssp. sativa* (Mill.) Thell.). Растения выращивали в камерах искусственного климата при температуре 23°C. Освещение обеспечивалось светодиодными (LED) лампами (соотношение красного и синего света 3:1). В первой серии опытов с разным ИДО растения выращивали при фотопериоде 16 ч или 24 ч при ФАР 270 мкмоль/(м^2 с). ИДО в этих случаях составлял 15.6 и 23.3 моль/(м^2 с), соответственно. Во второй серии опытов растения выращивали при 16 ч фотопериоде и ФАР 270 мкмоль/(м^2 с) или при 24 ч фотопериоде и ФАР 180 мкмоль/(м^2 с). В этом случае ИДО был одинаковым и составлял 15.6 моль/(м^2 с).

При выращивании растений в условиях 16 ч и 24 ч фотопериода с одинаковой освещенностью (разном ИДО) растения всех четырех видов при круглосуточном освещении имели бóльшую сырую и сухую биомассу побегов, массу листа на единицу площади и более высокий индекс робастности (от англ. *robust* – крепкий, отношение произведения сухого веса побега и толщины гипокотиля к длине гипокотиля). У всех исследованных видов также отмечено ускорение развития, проявившееся в более раннем появлении первого настоящего листа, что предполагает более ранние сроки сбора урожая. Ни у одной из культур не наблюдалось признаков фотоповреждений листьев в условиях 24 ч фотопериода. Круглосуточное освещение привело к развитию легкого окислительного стресса у растений, что зафиксировано по уровню перекисного окисления липидов и содержанию перекиси водорода. При этом отмечено, что такие растения накапливали больше антоцианов, флавоноидов, пролина и имели более высокую активность антиоксидантных ферментов (каталазы, супероксиддтсмутазы, аскорбатпероксидазы и гваяколпероксидазы). Кроме того, у растений всех четырех видов, выращенных в условиях круглосуточного освещения, содержание нитратов (потенциально вредных для здоровья человека) было ниже, чем у растений, выращенных при 16 ч фотопериоде.

В серии опытов с одинаковым ИДО вышеперечисленные различия между вариантами с 16 ч и 24 ч фотопериодом сохранялись, хотя в некоторых случаях они были менее выраженными. Это позволяет заключить, что повышение продуктивности, содержания низкомолекулярных антиоксидантов, активности антиоксидантных ферментов и снижение содержания нитратов происходит не за счет увеличения ИДО при круглосуточном освещении, а в результате влияния самого фотопериода.

Более высокая продуктивность и скорость фотосинтетической ассимиляции углерода в условиях круглосуточного освещения подтверждают гипотезу, что использование 24 ч фотопериода при выращивании растений обеспечивает постоянный приток энергии для ассимиляции CO_2, что приводит к большему накоплению биомассы и урожайности, если не происходит фотоповреждений листьев, вызванных таким световым режимом. Кроме того, результаты опытов показали, что круглосуточное освещение повышает питательную ценность микрозелени, которую можно использовать в качестве функционального продукта (“functional food”) для здорового питания. Функциональными считаются продукты, оказывающие потенциально положительный эффект на здоровье за рамками основного питания. Кроме того, пониженное содержание нитратов также повышает ценность микрозелени на рынке. Таким образом, выращивание растений в режиме круглосуточного освещения может быть использовано для экономически эффективного производства микрозелени брокколи, мизуны, редиса и руколы с повышенной пищевой ценностью.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-016-00033а.

Функционирования карбоангидраз в фотосинтезирующих клетках *Arabidopsis thaliana*

Руденко Н.Н., Игнатова Л.К., Федорчук Т.П., Надеева-Журикова Е.М., Козулёва М.А., Вильянен Д.В., Иванов Б.Н.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН Федерального исследовательского центра «Пущинский научный центр биологических исследований РАН», Пущино, Россия.
nataliacherry413@gmail.com

Карбоангидразы (КА) – ферменты, осуществляющие катализ реакций гидратации углекислого газа и дегидратации бикарбоната, отличаются по структуре, свойствам и деталям механизма осуществления этого катализа. В геноме высшего С3 растения *Arabidopsis thaliana* присутствуют 8 генов, кодирующих КА α-семейства и 6 генов, кодирующих КА β-семейства. Различные предположения о роли КА в реакциях фотосинтетического электронного транспорта и фиксации неорганического углерода, однако ни одна из гипотез не получила прямого экспериментального подтверждения. Полученные нами результаты исследования характеристик мутантов по КА *A. thaliana*, а также зависимость экспрессии генов КА от условий выращивания растений, позволили нам приблизиться к пониманию физиологической роли КА в клетках высших С3 растений.

Нокаут гена, кодирующего αКА1, расположенную в строме хлоропластов, приводил к ускорению, по сравнению с растениями дикого типа (ДТ), транспорта электронов через ФС1 и ФС2 и снижению скорости ассимиляции углекислого газа. В этих мутантах наблюдалось увеличение содержания хлоропластных и пероксисомной изоформ аскорбатпероксидазы, фермента, катализирующего восстановление H_2O_2 до H_2O. Такое возрастание свидетельствует о протекании, в отсутствие αКА1, с большими, чем в ДТ, скоростями реакций восстановления O_2 до H_2O в хлоропластах и фотодыхания, приводящего к образованию пероксида водорода в пероксисомах. Такой эффект наблюдается в растениях ДТ в условиях пониженного содержания углекислого газа в воздухе за счёт активации оксигеназной функции Рибулозобисфосфаткарбоксилазы/оксигеназы при недостатке основного субстрата фотосинтеза.

Выключение гена другой стромальной КА, βКА1, которая является одним из самых обильных белков растительной клетки, не приводило к уменьшению максимальных скоростей ассимиляции CO_2. Наблюдаемые в мутантах по βКА1, по сравнению с ДТ, изменения характеристик протон-движущей силы на тилакоидной мембране предполагают, что βКА1 может играть роль в регуляции pH стромы.

В люмене тилакоидов арабидопсиса обнаружено присутствие растворимой КА β-семейства с молекулярной массой 132 кДа, идентифицированной нами масс-спектрометрически как продукт гена, кодирующего βКА5.

Выключение синтеза другой тилакоидной αКА4, расположенной, согласно нашим данным, вблизи ФС2, приводило к уменьшению нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла (НФХТ), а также к многочисленным изменениям, по сравнению с растениями ДТ, метаболизма мутантных растений, в частности, к увеличению в листьях мутантов содержания белков, ответственных за развитие НФХТ, а также к уменьшению размеров светособирающей антенны ФС2. Нокаутирование гена ещё одной тилакоидной КА, αКА2, приводило к эффектам, противоположным тем, что наблюдались в мутантах по αКА4. Эти две КА, функционируя «в паре», могут принимать участие в регуляции энергозависимого НФХТ, связанного с протонированием белка PsbS.

В стромальных тилакоидных мембранах, обогащенных ФС1 и комплексами АТФ-синтазы, методом масс-спектрометрии в стромальных тилакоидах арабидопсиса показано присутствие αКА5, функционирование которой обусловливает обнаруженный много лет назад эффект стимуляции фотофосфорилирования в присутствии бикарбоната.

После двухнедельной акклимации к изменённому содержанию углекислого газа в воздухе КА-активность препаратов цитоплазмы, стромы хлоропластов и тилакоидов хлоропластов была тем выше, чем ниже была концентрация CO_2 в воздухе. Этому предшествовало краткосрочное повышение уровня экспрессии генов стромальной *βca1* и люменальной *βca5*, а также цитоплазматических *βca2*, *βca3* и *βca4* через 1-2 дня после начала акклимации. К существенному возрастанию экспрессии генов всех хлоропластных карбоангидраз, а также цитоплазматической карбоангидразы βКА2 приводило приводило увеличение интенсивности света.

В совокупности данные наших исследований свидетельствуют о том, что в клетках высших С3 растений КА, расположенные в цитоплазме, и КА, расположенные в хлоропластах, и, в первую очередь, обе стромальные КА, αКА1 и βКА1, функционируют кооперативно в осуществлении реакций, связанных с регуляцией фотосинтетических процессов, в том числе, в усилении потока неорганического углерода к местам его фиксации в ходе карбоксилирования.

Характеризация сенсора активных форм кислорода в K^+- канале GORK

Самохина В.В., Мацкевич В.С., Стефанович А.Е., Соколик А.И., Демидчик В.В.

Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, Минск, Беларусь.
dzemidchyk@bsu.by

Согласно устоявшемуся мнению, отток электролитов, основным из которых является K^+, при стрессовом воздействии на растение является неконтролируемым процессом, индуцируемым повреждением клеток и их мембранных оболочек. Тем не менее, в последние годы появились данные, указывающие на то, что отток K^+ при умеренном стрессе – процесс обратимый и опосредуемый не повреждением, а активацией K^+-каналов наружного выпрямления, кодируемых *Gork*. Данная активация происходит под действием деполяризации и накапливающихся при стрессе активных форм кислорода (АФК). Ранее нами идентифицирован АФК-чувствительный центр в структуре GORK (Цис-151) и проведена генетическая модификация данного центра – замена аминокислоты мишени АФК – цистеина (Цис) на редокс-инертный серин (Сер). Целью настоящей работы являлось тестирование выхода K^+ из клеток корня *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. с помощью радиоактивного трейсера $^{86}Rb^+$ и сравнение его у растений, обладающих нативным и генетически модифицированным Цис-151. Также в задачи работы входил анализ стрессоустойчивости нокаутов по GORK и растений с GORK, модифицированным по Цис-151, с использованием техники замены среды без переноса растений. Было показано, что у растений дикого типа выход $^{86}Rb^+$ ускорялся под действием NaCl в 5 раз, Cu^{2+}/аскорбат (смесь, генерирующая гидроксильные радикалы - $HO^{\bullet}$) в 3 раза, H_2O_2 в 2,5 раза. Близкие значения увеличения скорости выхода изотопа были зарегистрированы в случае растений *gork1-1* с возмещенным GORK. В тоже время, скорость стресс-индуцируемого потока $^{86}Rb^+$ была в 2 раза ниже у нокаутов по K^+-каналу *gork1-1*, а также у *gork1-1*, экспрессирующих GORK с заменой редокс-чувствительного Цис на Сер (GORK-C151S). Ингибирование роста корней линий арабидопсиса *gork1-1* и *gork1-1*, экспрессирующих GORK-C151S, под действием засоления, АФК, гамма-радиации, ионов меди, никеля и алюминия было значительно слабее, чем у растений дикого типа, т.е. данные растения приобретали общую стрессоустойчивость к стрессорам, которые вызывают отток K^+. Важно отметить, что экспрессия нативного гена *Gork* увеличивалась приблизительно в 1,5 и 2,7 раза при выращивании растений на фоне 100 и 200 мМ NaCl, соответственно, и снижалась на 25-30% на фоне 1 мМ H_2O_2. Таким образом, было установлено, АФК-чувствительный центр в структуре GORK (Цис-151) имеет важное значение в активации K^+-каналов GORK под действием АФК, а также, вероятно, обеспечивает отток K^+ под влиянием абиотических стрессоров.

Характеристики теломерной ДНК у представителей различных групп бриофитов

***Санникова А.В.*[*], *Шарипова М.Р.*[*], *Шакиров Е.В*[*,**], *Валеева Л.Р.*[*]**

[*] Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Кремлевская, ул., 18, Казань, Россия;
[**] Department of Biological Sciences, College of Science, Marshall University, Huntington, USA.
anastasya.sannikova@bk.ru

Теломеры представляют собой специализированные нуклео-протеиновые структуры на концах линейных хромосом эукариотических организмов, необходимые для поддержания целостности и стабильности генома. С каждым делением клетки, теломеры сокращаются и теряют свою защитную функцию. Структура теломер консервативна и сохраняется во всех эукариотах, однако в большинстве организмов наблюдаются значительные различия в длине теломер и составе белкового теломерного комплекса. Генетические особенности вариации длины теломер растений и их влияние на выживаемость организма в значительной степени еще не изучены. В связи с этим, использование новых модельных растительных организмов для изучения эволюции и регуляции длины теломер растений крайне важно. Бриофиты представляют собой одну из наиболее перспективных групп растений для изучения молекулярных механизмов и эволюции биологии теломер растений.

Целью работы было охарактеризовать длину и хромосомное распределение теломерных последовательностей ДНК у представителей различных групп бриофитов. В работе были использованы аксеничные культуры мха *Physcomitrium patens* четырех экотипов (Gransden, Reute, Villersexel, Kaskaskia), двудомный мох *Ceratodon purpureus* (мужская R40 и женская GG1 линия), а также природные изоляты сфагнума *Sphagnum fallax* MW (США), *Sphagnum girgensohnii* (Россия, Свердловская обл.) и *Sphagnum sp*. (Россия, респ. Марий-Эл). Для анализа длины теломер использовали геномную ДНК, выделенную из тканей 14 - дневной протонемы *P. patens* и *C. purpureus*, и гаметофоры сфагнума. Анализ длины теломер проводили методом TRF (**T**erminal **R**estriction **F**ragment analysis) совместно с Саузерн-блот анализом (Southern blotting). Расчет средней длины теломер проводили с помощью программы TeloTool.

Нами было показано, что разные экотипы растений *P. patens* имеют длину теломер в диапазоне от 1000 до 1500 п.о., что в 1.5-3 раза короче по сравнению с теломерами модельного покрытосемянного растения *A. thaliana,* длина теломер которого в среднем составляет от 2500 до 4500 п.о. у экотипа Columbia-0. Средняя длина теломер у экотипа Gransden, Reute и Villersexel составила ~ 1300 п.о., а средняя длина теломер у экотипа Kaskaskia составила ~ 1200 п.о. Помимо этого, мы показали, что у всех исследованных экотипов присутствуют специфические теломерные последовательности, предположительно внутрихромосомной локализации, причем отличающиеся своим расположением и длиной внутри экотипов.

Было показано, что длина теломер в женском растении *C. purpureus* GG1в среднем составляет от 480 п.о. до 550 п.о., а в мужском растений *C. purpureus R40* от 900 п.о. до 1150 п.о. Таким образом, длина теломер у мужского и женского растений отличается в 2 раза, что, предположительно, может быть связано с наличием генетических факторов регуляции длины теломер, специфичных для U или V хромосом. Мы исследовали динамику длины теломер в протонеме *C. purpureus* GG1 в течении 56 суток роста. Отбор тканей проводили каждые 14 суток. Было показано, что длина теломер в женской линии растений GG1 не изменяется в течении 8 недель, что указывает на стабильность теломерного комплекса и системы регуляции длины теломер *C. purpureus* в процессе активного деления клеток на стадии роста протонемы. В дальнейшем нами будет изучена корреляция длины теломер в мужском растении (R40) и установлено наличие внутрихромосомных теломерных повторов на хромосомной ДНК.

Мы показали, что длина теломер сфагнума *S. fallax* MW в среднем составляет от 1880 до 2000 п.о., У *S. girgensohnii* длина теломер в среднем составила ~ 2000 п.о. И несколько короче оказались теломеры у другого изолята растения *Sphagnum sp*, длина теломер которого составила от 1100 до 1500 п.о. Так же мы показали, что все три растения рода *Sphagnum* отличаются по количеству теломерных последовательностей, имеющих длину, отличающуюся от средней по растению, и, вероятно, их расположению на хромосомах. Идентификацию внутрихромосомных теломерных тандемных повторов на хромосомной ДНК проводили методом экзонуклеазной рестрикции с использованием фермента Bal31. Было идентифицировано наличие внутрихромосомных теломерных последовательностей длиной ~ 2000 п.о. Однако подобная интерстициальная теломерная ДНК не была обнаружена у *Sphagnum sp*.

Таким образом мы показали, что длина теломер бриофитов имеет как внутривидовую, так и межвидовую вариабельность, а также является стабильным признаком в течение роста и развития растений. Также обнаружены различия во внутрихромосомных теломерных ДНК последовательностях, причем большое количество таких последовательностей, вероятно, является отличительной характеристикой геномов бриофитов. Полученные данные позволяют предположить существование альтернативных механизмов регуляции длины теломер у бриофитов по сравнению с другими наземными растениями, что в дальнейшем позволит приблизиться к более полному понимаю эволюции биологии теломер растений и эукариот.

Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030) и финансирована грантом РНФ № 21-14-00147.

Накопление и распределение никеля у исключателей и гипераккумуляторов семейства Brassicaceae

***Серегин И.В.*[*], *Кожевникова А.Д.*[*], *Схат Х.*[**]**

[*] Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева РАН. Ботаническая ул., 35, Москва, Россия;
[**] Свободный Университет, Амстердам, Нидерланды.
ecolab-ipp@yandex.ru

Содержание металлов в органах растений может существенно превышать их содержание в окружающей среде, в результате чего они поступают в пищевые цепи. Поэтому растения, способные к накоплению отдельных элементов, привлекают в последнее время все большее внимание биологов, геохимиков и экологов. Решение проблемы избирательного накопления металлов в отдельных клетках, тканях и органах растений важно для понимания механизмов токсического действия металлов, их поглощения, транспорта и детоксикации, а также для изучения феномена гипераккумуляции. По способности к аккумуляции металлов выделяют две контрастные группы растений: исключатели, у которых тяжелые металлы накапливаются главным образом в корнях, и (гипер) аккумуляторы, у которых они накапливаются преимущественно в побегах. В работе проведены комплексные исследования по анализу способности гипераккумулятора никеля (Ni) *Noccaea japonicum*, гипераккумулятора Ni и цинка (Zn) *Noccaea caerulescens* (28 экотипов), гипераккумулятора Zn *Arabidopsis halleri,* а также исключателей (*Capsella bursa-pastoris*, *Lepidium ruderale*, *Microthlaspi perfoliatum*, *Thlaspi arvense*) из семейства Brassicaceae накапливать Ni. Семена, собранные с растений, произрастающих на ультраосновных (серпентиновых, богатых Ni), каламиновых (богатых Zn) или неметаллоносных почвах, проращивали в климатической камере (20°C/15°C день/ночь, 14-часовой световой день, влажность – 75%). Растения выращивали в тех же условиях в гидропонике на 0.5 N раствора Хогланда в течение 6-8 недель в присутствии соли Ni в разных концентрациях [0 – 1200 мкМ (*N. caerulescens*); 0 – 1100 мкМ (*N. japonicum*); 0 – 100 мкМ (*A. halleri*); 0 – 250 мкМ (*M. perfoliatum*); 0 – 100 мкМ (*T. arvense*); 0 – 30 мкМ (*L. ruderale*) и 0 – 20 мкМ (*C. bursa-pastoris*)]. Содержание Ni определяли методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии, а его распределение по тканям корней и побегов растений некоторых экотипов *N. caerulescens*, а также у *T. arvense*, *L. ruderale* и *C. bursa-pastoris* – гистохимическим методом с использованием металлохромного индикатора диметилглиоксима. Способность растений разных популяций *N. caerulescens* накапливать Ni в корнях в расчете на единицу массы уменьшалась в ряду: Puente Basadre ≈ Le Coulet > St-Baudille ≈ Cira ≈ Prémanon > Viviez ≈ Monte Prinzera > Les Avignières > Moravskoslezké > Le Bleymard ≈ Krušné Hory ≈ Wilwerwiltz ≈ La Calamine ≈ St-Félix-de-Palliéres ≈ Kuopio > Prayon, а в побегах – в ряду: Monte Prinzera > Kuopio > Krušné Hory > Les Avignières > St-Félix-de-Palliéres > Le Bleymard > Viviez ≈ Cira > Puente Basadre ≈ Prémanon ≈ Wilwerwiltz > Le Coulet > St-Baudille > Moravskoslezké > Prayon ≈ La Calamine. Содержание Ni в побегах *N. caerulescens* было в целом выше, чем у исключателей. Наибольшее среднее значение фактора транслокации было получено для растений популяций Monte Prinzera серпентиновой группы и Krušné Hory и Kuopio из группы с неметаллоносных почв, а наименьшее значение – у растений популяций La Calamine и Prayon каламиновой группы. Корреляции между содержанием Ni в корнях и побегах у *N. caerulescens* не было найдено, тогда как между способностью накапливать Ni в корнях и устойчивостью растений была обнаружена значительная положительная корреляция. Растения *N. japonicum* с серпенитиновых почв и неметаллоносных почв обладали сходной способностью к накоплению Ni в побегах, а значение фактора транслокации практически не отличалось от такового для растений популяции Puente Basadre *N. caerulescens* с серпентиновой почвы. Вариация по способности накапливать Ni между экотипами *N. caerulescens* с каламиновых почв была значительно выше, чем между экотипами с ультраосновных почв и между экотипами с неметаллоносных почв, что является отражением генетических различий, которые позволили, в конечном счете, растениям, изначально произрастающим на неметаллоносных почвах, освоить металлоносные почвы *de novo*. Содержание Ni в побегах *A. halleri* практически не отличалось от содержания Ni у *M. perfoliatum* и *T. arvense*. У исключателей Ni выявлялся в клетках апекса корня, ризодермы, эндодермы и накапливался в протопластах клеток коры корня. В побегах *N. caerulescens* Ni накапливался преимущественно в крупных основных (водозапасающих) клетках эпидермы. Даже при очень высоком содержании Ni в эпидермальных клетках *N. caerulescens*, его содержание в мезофилле было существенно ниже и признаков хлороза не наблюдалось, что позволяет рассматривать накопление Ni в эпидерме гипераккумуляторов как очень эффективный механизм его детоксикации. У *C. bursa-pastoris* и *L. ruderale* Ni выявлялся в трихомах, тогда как в остальных клетках его содержание было ниже предела определения гистохимического метода. Высокая устойчивость к Ni, особенно у растений популяций гипераккумуляторов с серпентиновых почв, по-видимому, объясняется высокой эффективностью механизмов детоксикации Ni и напрямую не связана с эффективностью его транслокации из корней в побеги.

Исследования выполнены за счет средств Российского научного фонда (проект № 21-14-00028, https://rscf.ru/project/21-14-00028/).

Изменения анатомического строения и проводимости флоэмы *Pinus sylvestris* L. в онтогенезе

Серкова А.А., Тарелкина Т.В., Галибина Н.А., Мошников С.А., Иванова Д.С., Семенова Л.И.

Институт леса - обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук», Пушкинская ул., 11, Петрозаводск, Россия.
aserkova@krc.karelia.ru

Понимание донорно-акцепторных отношений органов и тканей в древесном растении исключительно важно для прогнозирования изменений продуктивности и оценки потенциальных рисков гибели древесных насаждений в условиях экологического стресса и глобальных биосферных явлений. У древесных растений большой вклад в биомассу дают проводящие ткани ствола – кора (флоэма) и древесина (ксилема). Образование этих тканей происходит в результате деятельности камбия. Важную роль в регуляции камбиальной активности играет обеспеченность клеток камбиальной зоны фотоассимилятами, поступающими по флоэме. Анализ опубликованных в литературе сведений показал, что структурно-функциональные особенности проводящей флоэмы у древесных растений в онтогенезе изучены недостаточно.

Мы исследовали особенности строения вторичной флоэмы у сосен разного возраста (30, 70-80 и 180 лет) в сосняках брусничных в заповеднике «Кивач» (Республика Карелия). В июне 2021 года (в период активного камбиального роста) на высоте 1.5 м были отобраны образцы коры со стволов 5-7 деревьев каждого возраста. Фиксацию образцов и изготовление поперечных срезов тканей проводили по общепринятым методикам. Измерения количественных показателей на микрофотографиях проводили с использованием ImageJ. Проводимость ситовидных клеток проводящей флоэмы рассчитывали по формуле Хагена-Пуазёйля. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica.

Деревья в возрасте 30, 70-80 и 180 лет достоверно отличались по ширине вторичной флоэмы (2.3, 2.4, 3.1 мм соответственно) и проводящей флоэмы (250, 284, 343 мкм соответственно). Число ситовидных клеток в радиальном ряду проводящей флоэмы составило 11.8, 11.9, 13.1 (для 30-, 70-80- и 180-летних деревьев соответственно). У сосен некоторые ситовидные клетки могут иметь утолщенные оболочки. У всех деревьев доля ситовидных клеток с утолщенными оболочками составляла 10-65% от общего числа ситовидных клеток. Утолщенные оболочки у 30-, 70-80- и 180-летних сосен были в 2.2, 2.35 и 2.44 раза шире, что привело к уменьшению площади просвета ситовидных клеток на 8%, 10% и 15% соответственно. Однако расчеты теоретической проводимости флоэмы показали, что сужение просвета ситовидных клеток вследствие формирования утолщенных оболочек, по-видимому, не оказывает существенного влияния на транспорт фотоассимилятов. Высказана гипотеза о том, что отличия в структуре флоэмы у деревьев разного возраста могут быть связаны с разной обеспеченностью фотоассимилятами.

Исследование выполнялось в рамках Государственного задания Института леса КарНЦ РАН.

Влияние уровня экспрессии гена митохондриальной альтернативной оксидазы *AOX1a* на метаболизм аскорбата в растениях *Arabidopsis thaliana* при повышенной освещенности

Силина Е.В., Кырнышева М.В., Белых Е.С. Гармаш Е.В.

Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук ФГБУН ФИЦ «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук»,
Сыктывкар, Россия.
garmash@ib.komisc.ru

Аскорбат – важный низкомолекулярный антиоксидант в растительной клетке. Поддержание пула восстановленного аскорбата (Asc) обеспечивается за счет его регенерации в аскорбат-глутатионовом цикле (АГЦ) и синтеза *de novo*, связанного с функционированием электрон-транспортной цепи митохондрий (мЭТЦ), где L-галактоно-1,4-лактондегидрогеназа конвертирует L-галактон в Asc, передавая электроны цитохрому *c*. В мЭТЦ растений в дополнении к основному энергогенерирующему цитохромному пути транспорт электронов возможен по альтернативному пути (АП) через альтернативную оксидазу (АОХ). Вовлечение АП способствует поддержанию пула цитохрома *c* в более окисленном состоянии, что может способствовать синтезу Asc. В работе исследовано влияние разного уровня экспрессии *AOX1a* на процессы метаболизма Asc в растениях *Arabidopsis thaliana* при повышенной освещенности. 4-х недельные растения трех линий *Arabidopsis thaliana* (дикого типа Col-0, XX-2 со сверхэкспрессией *AOX1a*, AS-12 с антисенсовой ориентацией гена), выращенные при 90 мкмоль/м^2 с, экспонировали к повышенной освещённости 400 мкмоль/м^2 с в течение 8 часов. Изучали экспрессию генов и активность ферментов АГЦ, а также разных форм аскорбата и глутатиона в тканевом экстракте и хлоропластах. После 8 ч эксперимента растения со сверхэкспресией *AOX1a* характеризовалась увеличением относительного и абсолютного содержания клеточного и пластидного пула Asc и отсутствием изменений в экспрессии генов и активности ферментов АГЦ. В линии AS-12, напротив, отмечали резкое увеличение соотношения уровня окисленного аскорбата (DHA) к восстановленному как в тканевом экстракте, так и в изолированных хлоропластах. Одновременно после 8 ч экспозиции растений при повышенной освещенности в тканях и хлоропластах антисенсовых растений увеличивалась активность аскорбатпероксидазы (АРХ), использующей Asc как субстрат для восстановления H_2O_2, а также экспрессия генов цитозольной и стромальной форм фермента. Это свидетельствовало об активации компенсаторных механизмов антиоксидантной защиты у антисенсовых растений. При этом содержание восстановленного глутатиона (GSH), используемого для регенерации DHA, повышалось после 8 ч воздействия света. Это коррелировало с ослаблением экспрессии генов и активности дегидроаскорбатредуктазы (DHAR) и глутатионредуктазы GR, которые окисляют GSH и восстанавливают его из окисленной формы (GSSG) соответственно. Увеличение концентрации GSH на фоне снижения Asc можно связать с его антиоксидантной ролью, а также расценивать как сигнал для запуска компенсаторных механизмов антиоксидантной защиты в антисенсовой линии. Известно, что соотношение GSH/GSSG в клетках растений является важным редокс сигналом для активации других защитных систем.

Таким образом, уровень экспрессии *AOX1a* определял содержание клеточного и пластидного пула восстановленной формы аскорбата. Сверхэкспрессия *AOX1a* способствовала стабилизации пула Asc и устойчивости растений к повышенной освещенности. Подавление АОХ приводило к истощению пула Asc, что было вызвано компенсаторной активацией АРХ и ослаблением активности DHAR и GR, регенерирующих Asc из DHA.

Работа поддержана грантом РНФ № 22-24-01082.

Переключение паттерна устойчивости при переходе от семени к проростку

Смоликова Г.Н.*[*], *Крылова Е.А.*[*,**], *Билова Т.Е.*[*], *Вихорев А.В.*[****], *Рыженко А.С.*[*], *Черевацкая М.А.*[*], *Горбач Д.П.*[*], *Кисель Е.В.*[***], *Фролова Н.В.*[*], *Стрыгина К.В.*[*], *Хлесткина Е.К.*[**], *Фролов А.А.*[*,], *Медведев С.С.*[*]**

[*]Санкт-Петербургский государственный университет, Университетская наб., 7-9, Санкт-Петербург, Россия;
[**]Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова РАН, ул. Большая Морская, 42, Санкт-Петербург, Россия;
[***]Leibniz Institute of Plant Biochemistry, Department of Bioorganic Chemistry, Halle/Saale, Germany;
[****]Федеральный институт цитологии и генетики СО РАН, пр-т. Академика Коптюга, 2, Новосибирск, Россия.
s.medvedev@spbu.ru

Приобретение способности выживать после высыхания явилось решающим эволюционным шагом, который позволил первым растениям заселить сушу. Быстрая мобилизация механизмов устойчивости при потере воды и последующем увлажнении до сих пор широко распространена у мохообразных, некоторых водорослей и папоротников, а также небольшой группы цветковых растений. Однако, у семенных растений, которые пошли по пути усложнения анатомии и появления структур, предотвращающих потерю воды, устойчивость к обезвоживанию исчезла. Гены, которые на ранних этапах эволюции отвечали за адаптацию к высушиванию всего организма, стали специализироваться только на защите органов, способствующих распространению растений: спор, пыльцы и семян. Семена т.к. ортодоксального типа способны сохранять жизнеспособность при 5-10% влажности. Физиологической основой их устойчивости является накопление LEA-белков, белков теплового шока, ряда олигосахаридов и антиоксидантов на поздней стадии созревания. При этом семена становятся устойчивы и к другим абиотическим стрессорам. Основными регуляторами процессов созревания и формирования устойчивости к обезвоживанию является соотношение абсцизовой кислоты и гиббереллинов, а также сеть транскрипционных факторов LAFL (LEC1, ABI3, FUS3, LEC2). Удивительно, что устойчивость к обезвоживанию семена сохраняют не только в покое, но и при прорастании, вплоть до начала роста зародышевого корня. Именно инициация процессов роста и деления клеток корня является тем критическим моментом, когда семя становится проростком. Объектом нашего исследования являлись зародышевые оси гороха *Pisum sativum* L. до и после проклевывания. Нами проведен транскриптомный, протеомный и метаболомный анализ, который позволил выявить кардинальные перестройки паттерна экспрессии генов и белковых профилей, контролирующих устойчивость к абиотическим и биотическим стрессорам. Экспрессия значительного количества генов и уровень белков, связанных с ответом на потерю воды, существенно снижалась. Это сопровождалось также снижением экспрессии большинства генов, связанных с АБК-сигналингом, адаптацией к засухе и синтезом БТШ, а также снижением содержания олигосахаридов семейства раффинозы и галактинола. Изменялся окислительный статус клеток, что сопровождалось повышением содержания аскорбата, ТБК-реактивных продуктов и H_2O_2. В то же время менялся спектр экспрессии генов, ответственных за адаптацию к абиотическим стрессорам у растений. Начинали экспрессироваться гены, участвующие в защитных реакциях на патогены, и ответственные за синтез вторичных соединений. Повышалась экспрессия генов, контролирующих синтез PR-белков, салициловой и жасмоновой кислот. Перестройка метаболизма при переходе от семени к проростку, приводила к экспрессии генов и увеличению уровня белков, связанных с фотосинтезом и формированием клеточной стенки, метаболизмом сахаров, аминокислот и липидов, кодирующих мембранные переносчики и ферменты синтеза фитогормонов.

Работа выполнена за счет средств гранта Российского научного фонда № 20-16-00086 с использованием оборудования РЦ Научного парка СПбГУ.

Создание трансгенных растений томата (Solanum lycopersicum), экспрессирующих ген Δ9 десатуразы в различных компартментах клетки

Соболев Д.С.*[*], Павленко О.С.[*], Тюрин А.А.[*], Голденкова-Павлова И.В.[*], Халилуев М.Р. [**]

[*] Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Ботаническая ул., 35, Москва, Россия;
[**] Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Тимирязевская ул.,42,Москва Россия.
denissoboleww@gmail.com

Для получения трансгенных растений томата (*Solanum lycopersicum*), экспрессирующих Δ9 ацил-липидную десатуразу и оценки её влияния на жирнокислотный (ЖК) состав суммарных липидов при локализации в различных компартментах клетки, был проведен ряд экспериментов по трансформации растений томата, оценке экспрессии целевого гена и анализа ЖК состава суммарных липидов. Нами были сконструированы векторы, несущие ген *des*C, кодирующий Δ9 десатуразу. Для направления продуктов гена *des*C в различные компартменты растительной клетки, последовательность гена была слита с лидерными последовательностями, обеспечивающими локализацию продуктов гена в хлоропластах, ЭПР и цитоплазме. Полученными векторами трансформировали штамм *Agrobacterium tumefaciens* GV3101 с последующей агробактериальной трансформацией растений томатов *Solanum lycopersicum***.** В ходе работы доказано, что лидерные последовательности обеспечивают корректную локализацию белкового продукта рекомбинантного гена в целевых компартментах клетки, продемонстрирована специфичность гетерологичной Δ9 десатуразы в зависимости от ее локализации в растительной клетке, оценен вклад Δ9 десатуразы в изменение состава и массовой доли насыщенных и ненасыщенных ЖК суммарных липидов, произведена оценка относительной нормализованной экспрессии гена desC в трасгенных растениях.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 121033000137-1). Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 22-14-00057).

Пластохиноны в ассимилирующих побегах *Ephedra monosperma J.G. Gmel. ex C.A. Mey* в осенне-зимний период в условиях криолитозоны

***Софронова В.Е.*[*], *Протопопов Ф.Ф.*[**]**

[*] Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, пр. Ленина, 41, Якутск, Россия;
[**] Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова, Кулаковского ул., 48, Якутск, Россия.
vse07_53@mail.ru

Благодаря своему центральному положению в фотосинтетических потоках электронов пластохинон (ПХ, PQ) переносит электроны в линейном и альтернативных путях (хлородыхание, циклические потоки электронов вокруг ФС I и ФС II). ПХ, претерпевающий обратимые окислительно-восстановительные превращения в мембранах тилакоидов обладает также мощной антиоксидантной активностью: нейтрализует АФК (синглетный кислород, супероксид и перекись водорода). Существенная часть (приблизительно 50%) ПХ пула локализована в пластоглобулах и оболочках хлоропластов, которая фотохимически неактивна. Площадь над JI-фазой, определенная из OJIP-кинетики флуоресценции хлорофилла (Хл), пропорциональна количеству электронов, необходимых для восстановления фотовосстанавливаемого ПХ пула. Низкие температуры в диапазоне от +3,5 ± 3,1 до -24,2 ± 0.6°C (–9,8 ± 1,2°C под снегом) вызывают сильное уменьшение площадей над JI-фазами сезонных индукционных кривых Хл, измеренных на ассимилирующих побегах эфедры. Выявлена высокая степень корреляции между ними и сезонной динамикой падения значений параметра RC/ABS, выражающего концентрацию активных реакционных центров (RC) ФС II в общем пуле Хл. Умеренная деградация Хл в побегах и одновременное постепенное падение значений максимальной флуоресценции Хл (F_M) свидетельствует о существенном сокращении числа комплексов ФС II. Очевидно, что при формировании морозостойкости побегов происходит неуклонное снижение размера фотоактивного ПХ пула, ассоциированного с ФС II. При этом, по-видимому, сохраняется возможность сохранения в тилакоидных мембранах части фотоактивного ПХ пула, участвующего в хлородыхании, циклическом потоке электронов вокруг ФС I. С другой стороны, по данным химического анализа, при сезонном снижении температуры от 8.1°C до околонулевых температур уровень $ПХН_2$ увеличился в 2.5 раза (по сравнению с августом), а ПХ в 1.6 раза. Общее содержание ПХ ($ПХН_2$ + ПХ) в зимние месяцы было выше в 1.5 раза, чем в конце июля. Мы предполагаем, что наблюдаемое увеличение их количества происходит за счет накопления фотохимически неактивной фракции ПХ пула вне тилакоидных мембран, а именно в пластоглобулах и оболочках хлоропластов. Известно, что в ходе холодового закаливания тилакоидная система вечнозеленых растений, накапливающих вторичный каротиноид родоксантин (к таковым относится эфедра односемянная), реорганизуется, приобретая «световые» черты: уменьшается число гран, где локализуется ФС II, существенно возрастает объем пластоглобул, в результате увеличения их числа и размера. Выявлено, что повышение содержания пластохинонов у изучаемого вечнозеленого кустарничка в ответ на осенне-зимний низкотемпературный стресс было намного ниже, чем у активно вегетирующих эфемерных растений *Arabidopsis thaliana* при световом стрессе. Понижающая регуляция фотосинтеза, адаптивные изменения ультраструктуры хлоропластов, структурно-функциональная реорганизация ФСА при холодовом закаливании смягчают окислительный стресс, наблюдаемый у активно вегетирующих травянистых растений. Повышенное содержание пластоглобулярной фотохимически неактивной фракции ПХ пула в зимующих побегах растений эфедры может иметь важное значение в антиоксидантной защите ФСА при сборке активных комплексов PS II и возобновлении фотосинтеза ранним летом. В Центральной Якутии в течение первой декады июня наблюдаются высокая инсоляция 700…1100 мкмоль фотонов/($м^2$ с), перепады среднесуточных и минимальных температур в пределах 14 ± 5 и 7 ± 4°C. В начале вегетационного периода, когда абсорбция света при высокой инсоляции превышает способность фотохимического переноса электронов (высокий свет, низкие температуры), может иметь место истощение фотоактивного ПХ пула при его окислении синглетным кислородом ($^1O_2$), продуцируемым ФС II. Можно предполагать, что фотохимически неактивная пластоглобулярная фракция ПХ пула является резервуаром не только для пополнения тилакоидного пула после окисления молекул ПХ синглетным кислородом, но и для увеличения содержания фотоактивного ПХ пула в тилакоидных мембранах при нарастании числа активных комплексов ФС II при весеннем возобновлении фотосинтеза. Известно, что пластоглобулы физически тесно связаны с тилакоидными мембранами, что делает возможной диффузию пренилипидов (токоферолов, ПХ) из пластоглобул в тилакоиды.

Особенности водного режима у сорта *Мускат белый* и *Цитронный Магарача* на южном берегу Крыма.

Стаматиди В.Ю., Рыфф И.И.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Всероссийский национальный научно исследовательский институт виноградарства и виноделия «Магарач»РАН», ул. Кирова, 31, г.Ялта, Республика Крым, Россия.
stamatidi777@mail.ru

Водный дефицит на фоне глобального потепления усиливает необходимость изучения вопросов засухо- и жароустойчивости. В связи с чем необходимо изучать конкретные механизмы, обеспечивающие устойчивость растений к действию этих факторов.

По многолетним наблюдениям установлено, что крымские виноградники каждый второй год страдают от засухи. Выявлено, что водный дефицит является основным фактором низких урожаев винограда крымского полуострова. Степень устойчивости к абиотическим факторам у разных сортов растений отличается и требует подробного изучения.

В данной работе представлены результаты исследования водного режима на основе водных потенциалов листьев двух сортов винограда, динамика водных потенциалов в течении вегетационного периода на южном берегу Крыма. Исследование проводилось на виноградниках АО ПАО «Массандра», объектами исследований служили два перспективных сорта винограда – Мускат белый и Цитронный Магарача, сорта растут без орошения и часто испытывают водный стресс.

Водный режим каждого сорта определялся: послеполуденными и предутренними значениями водных потенциалов. В августе 2019 года (год засухи) – максимальные предутренние показания у сортов Цитронный Магарача и Муската белого составили 0,71МПа, тогда как послеполуденные показывали 1,61МПа у Цитронного Магарача против 1,71 у Муската белого, что говорит о явном стрессе у обоих сортов, но при этом сорт Цитронный Магарача испытывал меньший стресс. В 2020 году при меньшей засухе, по сравнению с 2019 годом максимальные предутренние значения у Цитронного Магарача были на отметке 0,44МПа, против 0,51МПа у Муската белого, дневные показания составили 1,43МПа у Цитронного Магарача и 1,50 МПа у Муската белого, что снова подтверждает лучший водный режим сорта Цитронный Магарача. В 2021 году при достаточной влажности, максимальные утренние показания были 0,39МПа у Цитроного Магарача и 0,47МПа у Муската белого, а дневные показания составили 0,88МПа у Цитронного Магарача и 1,12 у Муската белого. Водные потенциалы даны в виде среднего значения в пяти измерениях, сортовые различия между Цитронный Магарача и Мускатом белым были статистически достоверными.

Выражена закономерность изменения как предутренних, так и послеполуденных значений водных потенциалов листьев изучаемых сортов, особо сильно водные потенциалы изменялись в период засухи 2019 года. Данное явление объясняется постепенным иссушением почвы в течении вегетации вплоть до середины августа в комбинации с высокими температурами и низкой влажностью воздуха. Установлено, что водный режим сорта-аналога Цитронный Магарача более стабилен, чем водный режим сорта Мускат белый в условиях южнобережной зоны Крыма при возделывании без орошения. Результаты трехлетних исследований показали, что мониторинг водного потенциалов листьев растений является информативным инструментом оценки сортовой специфики водного режима винограда в условиях засухи и экстремально высоких температур.

Различная реакция трансклеточного и апопластного путей транспорта воды в корнях интактных растений пшеницы (*Triticum aestivum*) и кукурузы (*Zea mays*) на повышение концентрации атмосферного CO_2

Суслов М.А, Анисимов А.В., Горшкова Т.А.

Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, ул. Лобачевского 2/31, Казань, Россия.
makscom87@mail.ru

В настоящей работе исследовано влияние повышенных концентраций атмосферного углекислого газа на динамику радиального межклеточного и апопластного переноса воды в зоне всасывании корней интактных растений пшеницы (*Triticum aestivum*) и кукурузы (*Zea mays*). В работе были использованы оригинальные камеры роста растений, сопряжённые с техникой ^{1}H ЯМР ИГМП (протонный ядерный магнитный резонанс с импульсным градиентом магнитного поля), а также метод парамагнитного допинга. Измеряли такие основные параметры, как диффузионную проницаемость клеточных мембран, относительный вклад апопластного пути водного переноса, скорость транспирации и экспрессию генов аквапоринов в корнях в первые часы, через сутки и 15 суток после повышения концентрации атмосферного CO_2 до 800 ppm и 5000 ppm. Показано, что в первые часы после повышения концентрации CO_2 основной вклад в снижение интенсивности радиального водного переноса в корнях кукурузы вносит трансклеточный путь переноса воды, предположительно за счет снижения активности аквапоринов, тогда как у растений пшеницы основной вклад в начальное снижение интенсивности транспорта воды вносит апопластный путь. На более поздних стадиях воздействия CO_2 снижение межклеточного переноса воды в корнях пшеницы становится значительным и коррелирует со снижением экспрессии генов аквапоринов в корнях. Обнаружен эффект увеличения интенсивности водопоглощения, экспрессии генов аквапоринов и скорости транспирации в растениях кукурузы на 5-6-й день воздействия повышенной концентрации CO_2 5000 ppm. В растениях пшеницы таких изменений при 5000 ppm CO_2 не наблюдалось и данная концентрация приводила к более значительному снижению водного переноса по трансклеточному пути и экспрессии генов аквапоринов. На основе полученных результатов предполагается, что в процессе адаптации гидродинамической системы растений к резкому повышению концентрации атмосферного CO_2 растения пшеницы и кукурузы также проявляют свойства характерные, соответственно, для анизогидрической и изогидрической стратегий адаптации к абиотическим стрессам.

Работа поддержана грантом № 22-74-10087 Российского научного фонда.

Исследование регуляции трансляции в условиях холодового стресса (на модели томата)

Сухорукова А.В., Тюрин А.В., Голденкова-Павлова И.В.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Ботаническая ул., 35, Москва, Россия.
sualsha@yandex.ru

5’-нетранслируемые области являются ключевым регуляторным элементом мРНК и участвуют в механизмах регуляции трансляции эукариотических генов. Структура и основные особенности этого регулятора были уточнены во многих отношениях. Объектами исследования являлись теплолюбивые растения томата (Solanum lycopersicum L. селекционной линии ЯФЛ). В представленной работе мы уделили внимание поиску и анализу регуляторных цис-контекстов 5’-UTR мРНК томата в условиях холодового стресса. Мы проанализировали модуляцию транскрипции и трансляции у растений томата в нескольких вариантах: 1) влияние низких положительных температур (40С – закаливание); 2) холодовой стресс (0°С); 3) холодовой стресс растений после закаливания по сравнению с растениями, выращенными в нормальных условиях. Проведенные эксперименты показали высокую эффективность закаливания, в результате которого, растения томата значительно повышали свою устойчивость к гипотермии. Холодовая экспозиция 0°С, 2 ч вызывала существенные повреждения у незакаленных растений S. lycopersicum и не оказывала заметного влияния на закаленные растения. Для всех вариантов дифференциально транскрибируемые гены анализировали путем секвенирования тотального транскриптома, а дифференциально транслируемые гены - путем секвенирования моносомной и полисомной фракций мРНК, полученных при профилировании полисом. В результате анализа полученных наборов данных были выявлены дифференциально экспрессирующиеся гены, для которых уровень трансляции значительно изменяется под влиянием низких температур. С использованием различных подходов биоинформатики был проанализирован 5’-UTR этих генов и выявлены регуляторные контексты мРНК 5’-UTR, потенциально обеспечивающие трансляционную активность мРНК и функционирование клетки в условиях низких температур.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 121033000137-1). Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 22-14-00057).

Сезонная и суточная динамика азотсодержащих соединений в листьях *Hylotelephium triphyllum* (Haw.) Holub в условиях таёжной зоны Европейского Северо-Востока

Табаленкова Г. Н., Силина Е.В.

Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, Коммунистическая ул. 28, Сыктывкар, Россия.
tabalenkova@ib.komisc.ru

На территории европейского Северо-Востока одним из представителей сем. Crassulaceae на Севере является очитник трехлистный (*Hylotelephium triphyllum* (Haw.) Holub). В Республике Коми вид имеет широкую экологическую амплитуду и обширно распространен на данной территории. Характерным признаком растений сем. Crassulaceae является кислотный метаболизм или САМ-тип фотосинтеза, который как правило, проявляется лишь в условиях сильного и длительного водного стресса. *H. triphyllum* является одним из немногих видов природной флоры таежной зоны, способном к фотосинтетической ассимиляции CO_2 по САМ-типу. Ранее нами было показано, что фотосинтетический аппарат толстянковых, обитающих в условиях холодного климата, хорошо адаптирован к низким положительным и умеренным температурам, что позволяет растениям обеспечить уровень метаболизма, необходимый для реализации жизненной стратегии на Севере. Показано, что в листьях *H. triphyllum* отсутствует специализированная водозапасающая ткань, и они характеризуются высокой водоудерживающей способностью. Этому способствует накопление осмотически активных соединений – растворимых белков, аминокислот, амидов. Аминокислоты, образуясь в процессе фотосинтеза или в результате синтетической деятельности корней, в дальнейшем участвуют в разнообразных биохимических процессах. Аминокислоты - активнейшие участники практически всех сторон метаболизма растения. По сути, они являются материалом, благодаря которому происходит строительство растительных клеток. Кроме того, показано, что аминокислоты могу выступать в качестве сигнальных молекул при адаптивных реакциях на стрессовые факторы являются предшественниками структурных компонентов некоторых гормонов растений и могут выступать в качестве предшественников ряда вторичных метаболитов. Большой интерес в этом отношении представляет изучение аминокислотного состава растений, способных индуцировать переход с C_3 на САМ метаболизм при стрессовых воздействиях.

Исследовали сезонную и суточную динамику содержания азотсодержащих соединений в листьях растений *Hylotelephium triphyllum.* Установлено, что максимальное содержание в листьях общего азота, растворимого белка и свободных аминокислот приходилось на фазу отрастания с последующим их снижением к концу вегетации. Эти изменения сводятся в основном к уменьшению количества свободных аминокислот и особенно глютамина без заметных качественных изменений аминокислотного состава. Суточная динамика характеризовалась высоким содержанием свободных аминокислот и низким растворимого белка в утренние часы. Содержание свободных аминокислот статистически значимо коррелирует с концентрацией растворимого белка в листьях. В листьях *H. triphyllum* было обнаружено 23 свободных аминокислоты и 2 амида. Основная часть синтезируемых аминокислот в листьях молодых интенсивно растущих побегов *H. triphyllum* представлена амидами, их доля составляла почти 90% всей суммы аминокислот. Причем доминировал глютамин, его концентрация значительно выше, чем аспарагина. Обнаружено 4 непротеиногенных аминокислоты: γ-аминомасляная, β-аланин, орнитин, цитрулин. Суммарная доля непротеиногенных аминокислот увеличивалась по мере старения листьев с 0,6% от суммы аминокислот при отрастании до 5,8%, в фазу плодоношения, что соответствовало уменьшению в них содержания растворимого белка. Сезонную и суточную динамику непротеиногенных аминокислот определяла в основном γ-аминомасляная кислота. Среди аминокислот, используемых в качестве индикатора стресса, основную долю составлял аланин 46-56% от суммы стрессовых аминокислот и γ-аминомасляная кислота (32-36%) которая поданным ряда авторов участвует в регулировании внутриклеточного pH. Ранее было показано, что в сухой период растения *H. triphyllum* способны функционировать по САМ-типу фотосинтеза, о чем свидетельствуют ряд показателей, в том числе повышение кислотности клеточного сока. Переход на САМ-тип позволяет растениям снизить потери влаги, что необходимо при произрастании на легко теряющих влагу песчано-супесчаных почвах. Показано, что суточные изменения уровня кислотности клеточного сока соответствуют динамике содержания свободных аминокислот. Предполагается, что в закислении клеточного сока в листьях *H. triphyllum* определенный вклад вносят свободные аминокислоты в том числе γ-аминомасляная кислота. При низкой влажности воздуха и почвы (фаза цветения), кислотность клеточного сока значимо коррелирует с содержанием в листьях свободных аминокислот.

Антиоксидантная система растений: перспективная мишень будущей молекулярной селекции

Тарасов С.С., Крутова Е.К., Шестеркина И.А.

Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия. Гагарина пр., 97, Нижний Новгород, Россия.
tarasov_ss@mail.ru

Антиоксидантная система (АОС) растений важнейший компонент их метаболизма, дезактивируя различные биорадикалы. АОС представлена двумя основными группами: антиоксидантные ферменты (СОД, КАТ, пероксидазы и пр.) и низкомолекулярные антиоксиданты (НМАО) (токоферролы, каротиноиды, ретинол, филлохиноны, глутатион, аскорбиновая кислота, фенольные соединения и пр.). Количество генов, кодирующих антиоксидантные ферменты на порядок больше, чем самих ферментов, однако каждый из этих ферментов имеет множество изоформ. Например, в геноме *Arabidopsis thaliana L.* около 40 генов кодируют антиоксидантные ферменты. Общее же количество генов, задействованных в формировании АОС гораздо выше, и кроме генов, кодирующих ферментативные антиоксиданты, включает в себя и гены кодирующие ферменты обмена НМАО. Безусловно АОС играет ключевую роль в адаптационных реакциях растений, что обуславливает их устойчивость к различным абиотическим и биотическим факторам среды, что особенно важно при выведении устойчивых сортов, но несмотря на это в настоящее время генам АОС уделяется не достаточное внимание в современной лекции. Перед селекционерами особенно остро стоят вопросы переноса генов из одно генофонда в другой, однако данные работы крайне затруднительны, а в литературе имеется лишь ограниченное количество растений, полученных путём отдалённой гибридизации. Несмотря на это перспективы использования переноса генов между растениями являются крайне актуальными, а разработка технологий важнейшим событием в области молекулярной селекции. Наиболее перспективными претендентами при разработки подобных технологий можно считать гены АОС, которые не затрагивают продуктивные качества растений. Перенос генов между разными видами растений возможен с помощью CRISPR/Cas системы. На основании изложенного целью работы явилось выявить реакции антиоксидантных ферментов и экспрессию некоторых их генов на действие абиотических факторов среды (гипотермия и ультразвук) и разработать систему генетического редактирования неустойчивых, культурных растений путём замены генов их АОС на таковые гены от устойчивых, дикорастущих растений с помощью CRISPR/Cas системы.

В качестве объектов исследования использовали прорастающие семена и проростки пшеницы (*Triticum aestivum L.*) сорта «Экада-70» и овсяницы луговой (*Festuca pratensis*). Исследование in vitro проводили на суточных прорастающих семенах и недельных проростках. Низкотемпературное воздействие проводили на суточные прорастающие семена и недельные проростки в морозильной камере в течении 3-х минут (t -20 С). Ультразвуковое воздействие на семена осуществляли через 24 часа после замачивания. Исследуемые семена помешали в центр ультразвуковой ванны «УНИТРА – УНИМА» типа УМ – 4 (UNITRA – UNIMA UM-4) («LABIMEX», Польша), обработку проводили в водной среде, в течение 5, 10 и 20 минут. По окончанию экспозиции определяли активность СОД с использованием нитросинего тетразолия (НСТ), каталазу в семенах определяли газометрически, а в проростках спектрофотометически. Экспрессию генов ферментов АОС в прорастающих семенах и проростках определяли полуколичественно с помощью полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией по конечной точки, с последующей визуализацией в агарозном геле. Подпор праймеров проводили по кодирующему участку гена в программе Primer-BLAST (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast). Эксперимент проводился в 3-х биологических и 3-х биохимических повторностях. Результаты обработаны статистически, с расчётом среднее арифметическое (М) и стандартные отклонения (σ) с использованием программы MicrosoftExcel 2010.

Для разработки инструмента in silico редактирования генов работали с нуклеотидными последовательностями растений в https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore и https://phytozome.jgi.doe.gov/, вирусов в https://www.genome.jp/virushostdb/, CRISPR кассет в https://crispr.i2bc.paris-saclay.fr/. Генно-инженерные модификации проводили в программах SnapGene и Ugene. В качестве вектора использовали геном аденовируса.

Было установлено подавляющее влияние гипотермии и ультразвука на активность исследуемых ферментов и экспрессию их генов, как семян, так и проростков пшеницы. В семенах овсяницы активность СОД оказалось выше контроля, а активность КАТ не отличалась от контроля. У проростков картина активности исследуемых ферментов и экспрессии их генов была схожа с таковой в семенах.

Для усиления устойчивости пшеницы к действию стресс факторов предлагается заменить его гены АОС на таковые овсяницы. Для этого моделировали вектор доставки на основе аденовируса, в котором его природные рецепторы заменялись рецепторами вируса пшеницы, делались вставки, содержащие сведения о направляющей РНК, Cas12 нуклеазы, спейсерных последовательностей комплементарных областям геномного редактирования. Аденовирус также содержал донорный(е) ген(ы) овсяницы и CRISPR/Cas12 системы позволяющий создать «липкие концы» для его вставки после рестрикции горохового гена(ов).

Состав дегидринов и жирных кислот мембранных липидов в почках березы повислой в зимне-весенний период их развития в условиях криолитозоны

***Татаринова Т.Д.*[*], *Ветчинникова Л.В.*[**], *Серебрякова О.С.*[**], *Перк А.А.*[*], *Васильева И.В.*[*], *Пономарев А.Г.*[*]**

[*] Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, пр. Ленина, 41, Якутск, Россия;
[**] Институт леса ФИЦ «Карельский научный центр РАН», ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Россия.
t.tatarinova@gmail.com

Лиственные древесные растения, произрастающие в условиях холодного климата и многолетней мерзлоты Центральной Якутии, отличаются необычайно высокой морозоустойчивостью. Экстремально низкие зимние температуры воздуха (до –60°С) без возвратных потеплений, а также резкие перепады ее дневных и ночных значений в межсезонье определяют жизнеспособность и видовой состав дендрофлоры в криолитозоне. Устойчивость растений к неблагоприятным факторам среды в свою очередь формируется в результате комплекса структурных и физиолого-биохимических изменений клеток и тканей, однако механизмы их низкотемпературной адаптации в природных условиях до сих пор изучены недостаточно. В частности, при холодовой акклимации у растений могут происходить как перестройки гидрофобного мембранного матрикса, включая десатурацию жирных кислот и изменение в составе липидов, так и синтез и накопление белков с вероятными криопротекторными свойствами. Известно также, что стрессовые факторы различной природы (низкие температуры, засуха, засоление и др.) могут индуцировать в растениях экспрессию генов специфических белков. К таковым относятся, например, дегидрины – высокогидрофильные белки, содержащие консервативные К-, Y- и S-сегменты, физиологическую роль которых связывают с защитой биополимеров и мембран клеток от повреждений, вызванных дегидратацией. Наряду с этим, в условиях холодных регионов надземные органы древесных растений, в т. ч. зимующие почки, помимо длительного воздействия низких температур, подвержены осмотическому стрессу.

Целью работы явилось изучение изменений состава дегидринов и жирных кислот мембранных липидов в почках березы повислой (*Betula pendula* L.), произрастающей в условиях криолитозоны Якутии, в зимне-весенний период их развития.

С использованием метода иммуноблоттинга и специфичных антител против консервативного К-сегмента («Agrisera», Швеция) в почках березы повислой в зимне-весенний период в условиях криолитозоны были идентифицированы мажорные дегидрины с мол. м. 64, 69 кД и вариабельный – 17 кД, содержание которого преобладало в период зимнего покоя деревьев (февраль). В низкомолекулярной области обнаружены минорные 15, 37, 56 кД дегидрины. Весной с возрастанием температуры воздуха уровень всех белков заметно снизился, а 15 и 17 кД дегидрины полностью исчезли к началу вегетации. Анализ мембранных липидов в почках березы повислой показал, что в зимне-весенний период фосфо- (ФЛ) и гликолипиды (ГЛ) существенно различались как по составу жирных кислот (ЖК), так и их соотношению. Например, при наступлении предельно низких температур, часто наблюдаемых в Якутии в середине февраля, значения индекса двойной связи (DBI) и коэффициента ненасыщенности жирных кислот (U/S) были наименьшими. Подъем температуры воздуха в марте до значений (–20°С и выше), которые обычно наблюдаются в зимний период на всем протяжении ареала березы повислой, сопровождался увеличением уровня ненасыщенности жирных кислот в липидах мембран. При этом доля ненасыщенных ЖК составила более 80% от суммы ЖК и в четыре раза превысила сумму насыщенных. Такое высокое содержание ненасыщенных ЖК, по всей вероятности, способствовало поддержанию липидов мембранного комплекса в «жидкокристаллическом» состоянии. Более того, в составе ФЛ и ГЛ преобладали полиненасыщенные ЖК – линолевая и линоленовая, что свидетельствует о значительном потенциале морозоустойчивости березы повислой в условиях Якутии. По мере весеннего развития растений в ФЛ заметно возросла доля диеновых жирных кислот, а в ГЛ – диеновых и триеновых, причем последние достигли максимальных значений (80.7% от суммы ненасыщенных ЖК) к началу распускания почек. Содержание воды в почках березы в зимне-весенний период (февраль-апрель) было минимальным и варьировало в пределах 32–34%, затем ее количество в тканях значимо возросло (почти в два раза) и к началу вегетации деревьев (май) превысило 60%, что также соотносится с изменениями, которые происходили в составе гидрофильных белков-дегидринов.

Таким образом, в почках березы повислой в зимне-весенний период их развития выявлены адаптивные изменения, связанные с защитой клеточных структур и мембран от обезвоживания с участием дегидринов и полярных липидов. Особенности изменений, обнаруженные в составе стрессовых белков-дегидринов и жирных кислот мембранных липидов, могут свидетельствовать об их вероятном участии в формировании морозоустойчивости *Betula pendula* L. в условиях криолитозоны.

Регуляция функционирования сукцинатдегидрогеназы в листьях кукурузы в условиях солевого стресса

Флорес Каро О.Х., Федорин Д.Н., Епринцев А.Т.

ФГБОУ ВО "Воронежский государственный университет", Университетская площадь, 1, Воронеж, Россия.
bc366@bio.vsu.ru

У растений солевой стресс влияет на разные процессы на физиологическом и клеточном уровне, а также играет важную роль в активации механизмов толерантности к засолению у различных видов. Цикл трикарбоновых кислот (ЦТК) и электрон-транспортная цепь (ЭТЦ) −два важных процесса клеточного метаболизма и дыхания, реагируют на повышение концентрации ионов Na^+ и Cl^- в клетке. Сукцинатдегидрогеназа (СДГ, КФ 1.3.99.1), или Комплекс II, является ключевым ферментом, участвующим как в ЦТК, так и в ЭТЦ. Данный фермент участвует в адаптивной реакции клеточного метаболизма на солевой стресс.

Известно, что высокие концентрации внеклеточного NaCl изменяют экспрессию многих генов. В случае сукцинатдегидрогеназы показано, что концентрация мРНК генов, кодирующих субъединицы А и В СДГ, изменяется в условиях кратковременного солевого стресса в листьях проростков кукурузы. Хотя молекулярные механизмы, с помощью которых солевой стресс напрямую влияет на ферментативную активность и уровни транскрипции генов СДГ, остаются неизвестными, ее генетическая активность, вероятно, регулируется специальными транскрипционными факторами. Растения реагируют на абиотические стрессы, используя активность транскрипционных факторов (ТФ), которые кодируются семейством генов, что обеспечивает их участие в репрессии/активации генов, связанных с реакцией на абиотический стресс. Одним из важных регуляторов экспрессии генов являются факторы транскрипции *WRKY*. Семейство транскрипционных факторов WRKY участвует в реакции растений на абиотический стресс, в том числе на солевой стресс. Они связывают W-бокс (C/TTGACT/C), присутствующий в промоторе генов, и индуцируют их экспрессию для достижения клеточного гомеостаза.

Целью данной работы было изучение механизма регуляции сукцинатдегидрогеназы в листьях кукурузы *Zea mays L.* при солевом стрессе. Сравнительный анализ данных показал, что на активность сукцинатдегидрогеназы в листьях кукурузы влияет кратковременный солевой стресс. В течение первых 3 часов воздействия на проростки 150 мМ раствора NaCl активность сукцинатдегидрогеназы в листьях изменяется незначительно. Через 6 часов экспозиции в образцах, подвергшихся солевому стрессу, наблюдается меньшее снижение активности СДГ по сравнению с контрольными образцами. В течение 24 часов активность СДГ в листьях проростков кукурузы, инкубированных с NaCl, показывает значительное увеличение по сравнению с активностью на начальной стадии. Исследование нуклеотидных последовательностей генов, кодирующих субъединицы СДГ, показало, что сайты связывания для транскрипционных факторов семейства *WRKY* (W-бокс) присутствуют как в промоторной, так и в кодирующей областях, что может обеспечивать их участие в регуляции экспрессии генов СДГ в условиях солевого стресса.

Результаты анализа транскрипционной активности генов, кодирующих факторы транскрипции *WRKY* у *Zea mays L.,* свидетельствуют, что уровень транскриптов гена *ZmWRKY17* снижается в листьях исследуемых растений в течение первых 9 часов солевого стресса. Через 12 часов данный показатель возрастает, показывая максимальный уровень транскриптов после 24 часов инкубации в 150 мМ NaCl. Для *ZmWRKY33*, транскрипты начали значительно увеличиваться после 3-часовой инкубации в 2,7 раза по сравнению с контролем, а затем достигли максимального уровня через 12 часов, что в 6,8 раза выше контрольных значений. Полученные результаты исследования указывают на зависимость скорости функционирования сукцинатдегидрогеназы и уровня транскриптов NaCl-зависимых факторов *ZmWRKY17* и *ZmWRKY33* в листьях кукурузы при солевом стрессе. Вероятно, данные транскрипционные факторы обеспечивают регуляцию активности СДГ исследуемых растений при солевом стрессе за счет контроля интенсивности экспрессии ее генов.

Температурный стресс у мха *Hylocomium splendens*: полярные липиды и состояние клеточных мембран

***Хабибрахманова В.Р.*[*,**], Ренкова А.Г.*[*], Валитова Ю.Н.*[*], Галеева Е.И.*[*], Минибаева Ф.В.*[*]**

[*] Казанский институт биохимии и биофизики – обособленное структурное подразделение Федерального исследовательского центра "Казанский научный центр Российской академии наук", 420111, г. Казань, а/я 261;
[**] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Казанский национальный исследовательский технологический университет", 420015, г. Казань, ул. Карла Маркса, 68.
renkova@kibb.knc.ru

В механизмах устойчивости бриофитов, высших несосудистых растений, к действию стрессовых факторов среды, в т.ч. неблагоприятных температур, особое место занимают полярные липиды. Эти соединения определяют структурно-функциональные характеристики мембран. У мхов, так же, как и у высших сосудистых растений, полярные липиды представлены фосфолипидами, гликолипидами и сфинголипидами. Отличительной особенностью полярных липидов мохообразных является то, что они характеризуются высоким содержанием полиненасыщенных жирных кислот, а также наличием жирных кислот с уникальным химическим строением. Физиологический смысл такого отличия остается неясным, что обуславливает актуальность исследований в данной области. В связи с этим, основной целью настоящей работы является идентификация полярных липидов мха *Hylocomium splendens* (Hedw.), а также установление взаимосвязи между составом и содержанием полярных липидов и состоянием клеточных мембран в условиях температурного стресса.

Побеги мха *H. splendens* были подвергнуты действию пониженной (-20°C) и повышенной (+30°C) температур. Состояние клеточных мембран мха в условиях температурного стресса оценивали по выходу электролитов из клеток и индексу мембранной стабильности. Было установлено, что в образцах таллома мха, обработанных повышенной температурой, индекс мембранной стабильности повышался в среднем на 6%, а после воздействия пониженной температуры, наоборот, существенно снижался – на 15%, что может свидетельствовать о большей чувствительности мха *H. splendens* к холоду. Предположительно, это может объясняться серьезными изменениями в состоянии клеток: повреждение целостности клеток кристаллами льда, образующимися при постепенном замораживании талломов, заторможенность основных метаболических процессов при низких отрицательных температурах. При воздействии повышенной температуры активный метаболизм во мхе сохраняется, что позволяет ему адаптироваться к стрессу.

Сравнительной анализ мембранной стабильности мха *H. splendens* и корней пшеницы *Triticum aestivum* L. показал, что индекс мембранной стабильности у побегов мха почти на 14% выше, чем у корней пшеницы. Высокая мембранная стабильность клеток мха может вносить свой вклад в его устойчивость к экстремальным условиям произрастания.

Состав полярных липидов мха *H. splendens* исследовали с помощью ВЭТСХ (CAMAG, Щвейцария). Установлено, что они представлены фосфолипидами и гликолипидами. Их суммарное содержание в липидном экстракте мха сопоставимо (13% и 11%, соответственно). Среди гликолипидов наибольшую долю занимает дигалактозилдиацилглицерид (ДГДГ), а среди фосфолипидов – фосфатидная кислота, которая в высших растениях обычно содержится в очень малых количествах. Установлено, что при воздействии температурного стресса в побегах мха сохраняется качественный состав полярных липидов, но при этом изменяется их количественное содержание. Во мхе, обработанном повышенной температурой, наблюдаются более выраженные изменения по количеству фосфолипидов, в частности, доля основного мембранного фосфолипида – фосфатидилхолина, в побегах мха увеличивается на 15±2%. Можно предположить, что повышение индекса мембранной стабильности мха после воздействия повышенной температуры взаимосвязано с увеличением содержания фосфатидилхолина в составе его клеточных мембран.

Таким образом, особенности липидного состава экстремофильных организмов, в частности мхов, могут лежать в основе стресс-индуцированных изменений состояния клеточных мембран, а также устойчивости этих организмов к неблагоприятным условиям.

Работа выполнена в рамках выполнения государственного задания ФИЦ КазНЦ РАН, а также при финансовой поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований № 20-04-00988 (для А.Г. Ренковой и Ю.Н. Валитовой), гранта Президента РФ МК-393.2022.1.4 (для А.Г. Ренковой).

Накопление металла, дыхание и редокс-обмен корней пшеницы под влиянием высоких концентраций $CoCl_2$ и ЭДТА-комплексов кобальта

***Хаматдинова Г.И.*[*], *Федяев В.В.*[*,**], *Гарипова М.И.*[*], *Фархутдинов Р.Г.*[*]**

[*] Башкирский государственный университет, ул. З.Валиди, 32, Уфа, Россия;
[**] Уфимский Институт биологии УФИЦ РАН, пр. Октября, 69, Уфа, Россия.
vadim.fedyaev@gmail.com

Кобальт (Co) – тяжелый металл, который является важным элементом для растений и животных, но в высоких концентрациях оказывает токсическое воздействие. Co накапливается в почве в результате естественных геохимических процессов, а также в результате антропогенной деятельности. Co в почве, а также в составе ЭДТА-комплексов может находиться в двух степенях окисления – Co^{2+} и Co^{3+}. Co(III)ЭДТА, в отличие от Co(II)ЭДТА, обладает более высокой стабильностью, подвижностью и растворимостью. Co в почве может конкурировать с другими металлами за сайты связывания в макромолекулах, тем самым влияя на дыхание и редокс-обмен.

Изучали влияние $CoCl_2$ и ЭДТА-комплексов Co^{2+} и Co^{3+} на растения яровой пшеницы (Triticum aestivum L. сорт Казахстанская 10). Соединения кобальта добавляли питательную среду Хогланда-Арнона в концентрации 250 мкМ в расчете на металл.

Содержание кобальта в корнях 10-суточных растений определяли спектрофотометрически. Концентрация Co в корнях растений в присутствии $CoCl_2$ составляла 355±17 мкг/г сухой массы. При выращивании на растворах Co(II)- и Co(III)ЭДТА этот показатель несколько снижался – на 6 и 14% соответственно.

Скорость дыхания корней относительно контроля (без добавления кобальта) возрастала на 11 и 3% в присутствии $CoCl_2$ и Co(III)ЭДТА соответственно и снижалась на 12 процентов под влиянием Co(II)ЭДТА. При этом доля альтернативного пути митохондриального дыхания в корнях относительно контроля возрастала при выращивании на $CoCl_2$ и Co(II)ЭДТА на 100 и 57%, и только на 10% под влиянием Co(III)ЭДТА.

Скорость образования супероксид-аниона по сравнению с контролем возрастала в присутствии минеральной формы кобальта на 170%, Co(II)ЭДТА – на 86% и снижалась под влиянием Co(III)ЭДТА на 12%.

Таким образом изменения параметров дыхания и редокс-обмена в корнях растений пшеницы зависели от формы использованного соединения кобальта и степени окисления металла в составе ЭДТА-комплекса.

Реакция горчицы белой на повышенное содержание цинка в корнеобитаемой среде

Холопцева Е.С., Казнина Н.М., Титов А.Ф.

Институт биологии - обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук», ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Россия.
holoptseva@krc.karelia.ru

Одним из негативных результатов хозяйственной деятельности человека является почти повсеместное увеличение содержания тяжелых металлов в почве, в том числе на территориях занятых под сельскохозяйственные культуры. Наиболее широко распространено загрязнение цинком, который входит в состав минеральных удобрений и средств защиты растений от вредителей и болезней. Цинк является эссенциальным элементом, однако его высокие концентрации вызывают значительные нарушения жизнедеятельности растений, что в конечном итоге приводит к снижению их продуктивности. Поэтому актуальным становится поиск видов растений, которые способны расти при высоких концентрациях цинка в почве и при этом накапливать его главным образом в корнях, препятствуя поступлению в надземные органы. Одним из таких видов, как следует из литературы, является горчица белая (*Sinapis alba* L.). Установлено, что она хорошо растет на почвах с высоким содержанием цинка, но чем обеспечивается эта способность на уровне физиологических процессов, не вполне ясно.

Задачей настоящего исследования была оценка влияния повышенных концентраций цинка в корнеобитаемой среде на рост, активность фотосинтетического аппарата (ФСА) и водный обмен горчицы белой (сорт Бельгия). Растения выращивали в условиях вегетационного опыта на песчаном субстрате. Цинк в концентрациях 5 (контроль) и 45 мг/кг субстрата (опыт) добавляли в виде сернокислой соли одноразово при закладке опыта. Полив осуществляли питательным раствором Хогланда-Арнона. Спустя 18 сут определяли влияние избытка цинка на ряд показателей ФСА (скорость нетто-фотосинтеза, устьичная проводимость, содержание фотосинтетических пигментов, квантовая эффективность ФС II) и водного режима растений (интенсивность транспирации, эффективность использования воды – WUE). Кроме этого, измеряли сырую и сухую биомассу подземных и надземных органов.

Результаты исследования показали, что цинк в концентрации 45 мг/кг вызывает у горчицы заметное снижение устьичной проводимости и интенсивности транспирации. Однако снижение потерь воды в процессе транспирации позволило сохранить растениям необходимую оводненность тканей корня и побега, а также способствовало росту показателя WUE, что свидетельствует об адаптации растений к стрессовому воздействию. В тоже время, скорость фотосинтеза у растений, находящихся в условиях избытка цинка, сохранялась на уровне контрольных растений. Этому способствовало поддержание активности фотосистемы II, о чем в частности говорит отсутствие уменьшения величины показателя F_v/F_m, характеризующего максимальный квантовый выход флуоресценции хлорофилла, а также увеличение содержания фотосинтетических пигментов. Отсутствие изменений в сырой и сухой биомассе корня и побега у опытных растений по сравнению с контрольными также свидетельствует в пользу того, что наблюдаемые изменения показателей водного режима носят адаптационный характер.

В целом, результаты исследования подтвердили, что горчица белая является устойчивым к повышенным концентрациям цинка в корнеобитаемой среде видом, что в значительной степени обусловлено её способностью поддерживать в этих условиях необходимую скорость фотосинтеза, достаточную оводненность тканей и рост, т.е. сохранять на высоком уровне названные физиологические процессы, которые являются важными составляющими нормальной жизнедеятельности растений.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (FMEN-2022-0004)

Регуляция активности камбия у сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в период активного камбиального роста. Система *Cle41/44 – PXY – WOX4*.

Чирва О.В., Мощенская Ю.Л., ГалибинаН.А., Корженевский М.А, Никерова К.М., Ершова М.А.

Институт леса – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук», Петрозаводск, Россия.
tchirva.olga@yandex.ru

Древесина (она же вторичная ксилема) является наиболее распространённым источником биомассы, производимой растениями, а также важнейшим источником возобновляемой энергии. Понимание механизмов ее формирования у сосны обыкновенной – основной лесообразующей породы Северо-Запада России, обеспечит грамотное использование этого ресурса. Древесина состоит из клеток ксилемы, образующихся в результате деления и дифференциации стволовых клеток латеральных меристем. Таким образом, активность этих делений определяет количество образующейся древесины. Согласно данным литературы, регуляция камбиальной активности осуществляется посредством растительных гормонов (ауксин, цитокинин, этилен), а также за счёт низкомолекулярного пептидного сигналинга.

Сигнальный путь *Cle41/44 – PXY – WOX4* является эволюционно консервативной программой регуляции активности камбия и осуществляет первичный контроль деятельности стволовых клеток. Эти первичные мессенджеры производят контроль ориентации делений, активируют пролиферацию камбия, а также ингибируют преждевременную дифференциацию меристематических клеток по ксилемному типу.

В ходе исследования были отработаны и модифицированы методики получения высококачественных препаратов РНК, выбраны стабильно экспрессирующиеся референсные гены для нормализации данных при помощи программ BestKeeper и NormFinder (*GapDH*), изучена экспрессия генов интереса *Cle41/44*, *PXY*, *WOX4, WOX13* в тканях ствола 30-, 80- и 180-летних деревьев сосны в период камбиального роста (средняя подзона тайги).

Согласно полученным данным, наиболее высокий уровень транскриптов TDIF (*Cle41/44)* зарегистрирован в тканях флоэмы, а его рецептора TDR (*PXY)* в ксилеме. Это согласуется с данными других авторов, полученных на модельных растениях *Arabidopsis thaliana* и *Populus trichocarpa*.

Гены семейства *Wuschel* (*WOX*) отвечают за регуляцию бифасциальных стволовых клеток сосудистого камбия, а именно контролируют уровень деления (*WOX4*) и поддерживают их в недифференцированном состоянии (*WOX13*). В нашей работе мы выявили, что экспрессия гена *WOX13* выше в клетках дифференцирующейся флоэмы, в то время как ген *WOX4* более активен с ксилемной стороны камбия.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось при финансовой поддержке РНФ (№ 21-14-00204).
Исследования выполнены на научном оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук».

Анализ транскрипционной активности ряда генов *Vicia cracca* L. при хроническом радиационном воздействии в Чернобыльской зоне отчуждения

Шестерикова Е.М, Битаришвили С.В., Празян А.А., Бондаренко В.С., Волкова П.Ю.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии», 249032, Обнинск, Россия.
EShesterikova89@gmail.com

Исследование процессов адаптации дикорастущих растений к хроническому радиационному воздействию в сочетании с иными факторами окружающей среды представляется важной задачей для выявления генетических детерминант устойчивости к стрессорам. Территории Чернобыльской зоны отчуждения, загрязнённые радионуклидами, являются перспективными экспериментальными площадками для изучения молекулярных, биохимических и физиологических изменений в популяциях растений, произрастающих в условиях хронического облучения, а также позволяют получить уникальные данные о механизмах адаптации к многолетнему антропогенному воздействию. Однако существуют объективные сложности в изучении экспрессии генов хронически облучаемых растений в полевых условиях, что связанно в основном с недостаточностью геномной и транскриптомной информацией для немодельных растений, а также с ограниченным количеством исследований на радиоактивно загрязнённых территориях. В данной работе проведён анализ транскрипционной активности ряда генов в популяциях многолетнего растения горошка мышиного (*Vicia cracca* L.), произрастающих в Чернобыльской зоне отчуждения. Отбор листьев с немедленной заморозкой в жидком азоте проводили на территории Полесского государственного радиационно-экологического заповедника в Гомельской области Республики Беларусь на четырёх участках с разным уровнем радиоактивного загрязнения. В качестве контрольных использовали участки Ломыш (Л) и Бабчин (Б), где уровни радиации были близки к фоновым, участки Кулажин (К) и Масаны (М) были радиоактивно загрязнены. Основываясь на литературных данных и собственных высокопроизводительных экспериментах, а также принимая во внимание известные закономерности действия стрессовых факторов на растение, был составлен список таргетных генов, которые могут участвовать в адаптации растения к хроническому радиационному воздействию. Продукты данных генов, связаны с работой ферментных и неферментных компонентов антиоксидантной системы, с трансдукцией сигналов, с процессами фотосинтеза, транспортом пероксида водорода, а также водным обменом (гомологи *APX1, CAB1, RBOH-F, Hy-5, TIP1, PIP1*) и синтезом гистонов и шаперонов (гомологи *H2B, CPN60A, CPN-20*). Также для *V. cracca* с помощью литературных источников были подобраны несколько референтных генов близкородственного вида *Vicia faba* L.: *CYP2* и *ELF1A*. Для разработки праймеров для *V. cracca* были подобраны наиболее консервативные участки последовательностей целевых генов, базируясь на известной последовательности этих генов у модельного растения *Arabidopsis thaliana* с помощью информационного портала araport.org. Далее в разработке праймеров для гомологов кандидатных генов использовали несколько ресурсов: база данных NCBI, программа для множественного выравнивания нуклеотидных последовательностей Clustal Omega 1.2.2 и программа для создания праймеров Primer BLAST. Для расчётов изменения экспрессии генов опирались на модель ΔΔCp. Результаты оценки дифференциальной экспрессии гомологов генов *V. cracca*, связанных с антиоксидантной системой, сигналингом АБК и с увеличением интенсивности фотосинтеза (*APX1, RBOH-F, CAB1, Hy-5*), показали значимое увеличение экспрессии на всех радиоактивно загрязнённых участках относительно двух контрольных участков. Также было показано увеличение экспрессии гомологов генов аквапоринов. Результаты анализа транскрипционной активности гомологов генов шаперонов показали, как значимый рост, так и значимое снижение на радиоактивно загрязнённых участках, соответственно *(CPN60A, CPN-20*). Транскрипционный ответ гомолога гена, отвечающего за синтез гистона H2B, показал рост экспрессии на радиоактивно загрязнённых участках. Анализ полученных данных позволяет заключить, что для популяций *V. cracca*, произрастающих в Чернобыльской зоне отчуждения, существует выраженный транскрипционный ответ на хроническое радиационное воздействие.

Работа была выполнена при поддержке гранта РНФ (№ 20-74-10004).

Механизмы фотоповреждений листьев в условиях длинных фотопериодов

Шибаева Т.Г., Титов А.Ф.

ФИЦ «Карельский научный центр РАН», Институт биологии, ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Россия.
shibaeva@krc.karelia.ru

Свет необходим растениям для нормальной жизнедеятельности как источник энергии и один из регуляторов их роста и развития. Вместе с тем, не только его недостаток, но и избыток света может быть вреден для растений. Увеличение интенсивности освещения до определенной критической величины приводит к различным негативным последствиям, в частности вызывая фотоингибирование, фотодинамическое разрушение фотосинтетического аппарата и даже гибель растения. Помимо высокой освещенности, избыток света может возникать в условиях длинных фотопериодов. Так, многочисленные данные свидетельствуют о негативном влиянии длинных фотопериодов (более 17-20 ч) на рост и продуктивность растений. У многих видов растений в условиях круглосуточного освещения (КО) развивается характерный и потенциально летальный межжилковый хлороз и некроз. Симптомы светового повреждения листьев при КО отмечены у таких культур как томат, баклажан, сладкий перец, огурец, картофель и некоторых других. Но несмотря на то, что феномен светового повреждения листьев в условиях КО был описан более 80 лет назад, причины подобных фотоповреждений до сих пор не вполне ясны, хотя понимание данного феномена важно как с теоретической, так и практической точки зрения.

Во многих работах высказано предположение, что важным фактором в возникновении повреждений, вызванных КО, являются изменения в углеводном обмене, которые в частности выражаются в накоплении большого количества крахмала и растворимых сахаров в листьях. Предполагается, что усиленное накопление крахмала в этих условиях может нарушать структуру и функционирование хлоропластов, приводя к развитию хлороза. С другой стороны, возможна и фотоокислительная деструкция хлорофилла в результате ингибирования КО ассимиляции CO_2. Так, увеличение накопления крахмала через механизм обратной связи вызывает перегрузку цикла Кальвина (снижение скорости фотосинтеза), что может лимитировать использование АТФ и НАДФН, образованных в световых реакциях, вызывая тем самым перегрузку электрон-транспортной цепи хлоропластов и фотоокисление хлорофилла, и обусловливая наблюдаемый хлороз листьев. Высказываются также предположения, что вместо подавления фотосинтеза по принципу обратной связи, высокая концентрация сахаров может выступать триггером старения растений, которое в условиях КО сопровождается повреждением растений. Однако, пока ни одна из двух гипотез - о том, что программируемая клеточная гибель листьев может быть вызвана углеводным голоданием листьев или, наоборот, усиленным накоплением углеводов в клетках листьев - не нашла достаточного экспериментального подтверждения.

В литературе также имеются гипотезы, отводящие накоплению углеводов второстепенную роль в повреждении листьев при КО или даже отрицающие их участие. Есть данные о том, что при КО наблюдается нарушение нормального оборота углеводов в суточном цикле, но не происходит гипераккумуляции крахмала, но при этом развивается хлороз листьев. Кроме того, например, было показано, что устойчивость к КО у дикого томата обусловлена геном *LHCB type III CAB-13* (кодирует белок светособирающего комплекса ФС I), связь которого с углеводным обменом не установлена.

В противоположность обычному фотопериоду, включающему чередование дня и ночи, КО обеспечивает непрерывное поступление световой энергии для фотосинтеза, постоянное фотоокислительное воздействие, сигнальное воздействие на фоторецепторы и рассогласование внутренних (циркадных) биоритмов с внешним циклом свет/темнота (циркадная асинхрония). Таким образом, анализ имеющихся литературных и собственных данных позволяет заключить, что поскольку влияние всех четырех указанных компонентов КО на растения происходит одновременно, то не исключено, что фотоповреждения индуцируются всеми указанными компонентами, действующими в комбинации, но их удельный вклад может при этом варьировать (например, в зависимости от объекта или внешних условий). Исключить роль накопления углеводов, очевидно, нельзя, но окончательный вывод о роли углеводного обмена в фотоповреждении листьев в условиях КО должны дать новые исследования.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-016-00033а.

Влияние акклимации к повышенной температуре на устойчивость к осмотическому стрессу галофитов с разным типом фотосинтеза: C_3-C_4 *Sedobassia sedoides* и C_4-НАДФ *Kocha prostrata*

Шуйская Е.В., Рахманкулова З.Ф., Прокофьева М.Ю., Казанцева В.В., Лунькова Н.Ф., Саидова Л.Т.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Ботаническая ул., 35, Москва, Россия.
evshuya@gmail.com

С повышением глобальной температуры и сокращением водных ресурсов, важно понимать физиологические и биохимические механизмы, а также структурные адаптации, которые позволяют растениям с фотосинтетическими модификациями (C_4 и C_3-C_4 фотосинтезом), выживать в жарких и засушливых условиях. В связи с этим, исследовали влияние акклимации к повышенной температуре (30°C) на продуктивность, устойчивость фотосинтетического аппарата (эффективность фотосистем I и II (ФС I и II), содержание Рубиско и ФЕПк (фосфоенолпируваткарбоксилаза), экспрессию генов *rbc*L (большая субъединица Рубиско), *Ppc1* (изоформа1 ФЕПк), *PPDK* (пируватфосфатдикиназа), *psaA* (ФСI-A), *psbA* (ФСII D1 белок)) и водно-солевой баланс (содержание воды, пролина, Na^+, K^+ и отношение K^+/Na^+) к ПЭГ-индуцированному осмотическому стрессу (-0.3 МПа) галофитов *S. sedoides* с промежуточным C_3-C_4 типом фотосинтеза и *K. prostrata* с C_4-НАДФ малатным типом фотосинтеза. Выращивание C_3-C_4 *S. sedoides* при повышенной температуре (30°C) привело к 40% усилению циклического транспорта ФСI, 20% снижению содержания Рубиско (большой субъединицы L) и 50% усилению экспрессии гена *Ppc1* на фоне снижения содержания воды (на 20%) и отношения K^+/Na^+ (на 14%), а также повышения концентрации пролина (на 82%) (по сравнению с контрольными растениями, выращенными при 25°C). ПЭГ-индуцированный осмотический стресс привел к снижению сухой биомассы (на 51-56%), 2-кратному усилению экспрессии гена *psbA*, к снижению содержания воды (47-54%) и аккумуляции ионов натрия (на 20-23%) у растений *S. sedoides* не зависимо от температуры выращивания. Акклимация к повышенной температуре оказала компенсаторный эффект, т.е. снизила негативный эффект осмотического стресса на интенсивность нефотохимического тушения флюоресценции (NPQ) и уровень пролина. Таже наблюдалось повышение содержания Рубиско и экспрессии соответствующего гена (*rbc*L), и содержания ФЕПк. Синергетический эффект повышенной температуры и осмотического стресса выражался в усилении экспрессии гена *PPDK*, а также снижении содержания K^+. Выращивание C_4-НАДФ *K. prostrata* при повышенной температуре не оказало значимого влияния на работу фотосистем, но привело к почти 2-кратному снижению содержания фотосинтетических ферментов Рубиско и ФЕПк на фоне снижения содержания воды (на 16%), K^+ (на 13%) и пролина (на 49%). Осмотический стресс привел к снижению сухой биомассы (на 28-49%), содержания воды (36-41%) и эффективного квантового выхода ФСII (Φ_{PSII}) (на 32-34%) у растений *K. prostrata* не зависимо от температуры выращивания. Акклимация к повышенной температуре оказала компенсаторный эффект на уровень пролина и содержание Рубиско при воздействии осмотического стресса. Синергетический эффект повышенной температуры и осмотического стресса выражался в снижении аккумуляции натрия и соответствующем повышении отношения K^+/Na^+, а также в снижении максимального квантового выхода ФСII (F_v/F_m) за счет увеличения диссипационных потерь (NPQ). Также наблюдалось почти 2-кратное увеличение содержания ФЕПк по сравнению с отдельным действием данных факторов. Таким образом, C_4-НАДФ вид *Kocha prostrata* оказался более устойчивым к повышенной температуре, а наблюдаемые синергетические эффекты свидетельствуют о наличии специфических механизмов устойчивости к комплексному воздействию повышенной температуры и засухи, которые позволяют произрастать данному виду в более жарких и засушливых условиях, чем C_3-C_4 *Sedobassia sedoides*.

Значение генерации и взаимопревращений АФК на влажном рыльце для прорастания пыльцы *in vivo*

Щекалева О.И., Клименко Е.С., Лунева О.Г., Брейгина М.А.

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра физиологии растений, Ленинские горы 1-12, Москва, Россия.
anny.shirly.ganbatte@gmail.com

Взаимодействие между мужским гаметофитом и женскими тканями спорофита в прогамной фазе оплодотворения является важным аспектом репродуктивной биологии растений. Рецептивная жидкость, образующаяся на спорофите, помимо углеводов, служащих для питания пыльцевого зерна, содержит низкомолекулярные соединения, которые могут играть важную сигнальную роль во взаимодействиях с пыльцой. В нашей работе внимание было сосредоточено на анализе динамики и взаимопревращений АФК в рыльцевом экссудате табака и лилии и их роли в прорастании пыльцы *in vivo*.

Генерация суммарных АФК на рыльце пестика – общепризнанный факт, она была убедительно показана для многих растений, однако, не было данных о том, какие именно АФК генерируются на каждом из этапов созревания, какие ферменты определяют их переход друг в друга, насколько они активны. Главным же вопросом оставалось значение обнаруженной генерации для успеха половой репродукция растения. Методом электронного парамагнитного резонанса нами были получены полуколичественные данные о генерации супероксид анион-радикала на разных стадиях развития цветка. Также мы количественно оценили содержание H_2O_2 в рыльцевом экссудате, собранном с пестиков на разных стадиях развития. При изучении динамики было установлено, что у табака в процессе созревания рыльца, а особенно после опыления уровень генерации $O\cdot 2^{-}$ снижается, такая же динамика наблюдается в количестве пероксида в экссудате. При изучении аналогичной динамики у *Lilium longiflorum* наблюдается обратная тенденция – по мере созревания рыльца, генерация радикалов на нём растёт и количество перекиси увеличивается.

Взаимопревращение АФК обеспечивают ферменты редокс-метаболизма, основными из которых на рыльце является супероксиддисмутаза (СОД).

Зимографическое определение активности супероксиддисмутазы в рыльцах табака и лилии на разных стадиях развития пестика и в опыленных цветках после нативного электрофореза позволило изучить динамику активности фермента и сравнить её для двух растений; выявлены значительные различия.

Чтобы понять, насколько активность ферментов и взаимопревращение АФК важны для скорости и эффективности прорастания пыльцы, мы разработали методический подход, включающий в себя ингибиторный анализ в комплексе с контролируемым опылением. Для оценки результата мы использовали флуоресцентную микроскопию и подсчёт семян. Мы установили, что, по сравнению с контрольными цветками ингибитор НАДФН-оксидазы снижает скорость прорастания примерно в 4 раза, а ингибитор СОД, повышая сигнал ЭПР от супероксид-радикала, одновременно сильно замедляет прорастание in vivo. На эффективность оплодотворения ингибитор СОД также оказывает заметное влияние, снижая ее в 1.5 раза. Прорастание, рост и направление пыльцевых трубок по тканям пестика — процесс с тонкой регуляцией, включающий непрерывный обмен сигналами, как физическими, так и химическими. Важное значение при этом имеют АФК. Обе активные формы кислорода, присутствующие на рыльце, по данным более ранних исследований, оказывают физиологическое воздействие на пыльцу in vitro, однако, как мы показали, на пестике именно пероксид водорода в значительной мере определяет успех прорастания. Основными ферментами оксилительно-восстановительного баланса являются НАДФН-оксидаза и СОД и их активность важна для быстрого прорастания пыльцевых зерен.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 21-74-10054)

Особенности изменений фотосинтетических параметров при комбинированном локальном действии стрессоров у пшеницы

Юдина Л.М., Попова А.Ю., Золин Ю.А., Сухова Е.М., Сухов В.С.

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, пр-т. Гагарина, 23, Нижний Новгород, Россия.
lyubovsurova@mail.ru

Растения в природных условиях подвержены действию многочисленных стрессоров, однако зачастую, в лабораторных условиях проводятся исследования влияния только одиночных стресс-факторов. Например, в литературе имеются данные о том, что локальное освещение или нагрев способны вызывать распространяющиеся электрические сигналы, которые способны влиять на физиологические процессы растения в целом, в том числе на фотосинтез и продуктивность. Также известно, что для индукции сигнала деполяризации (например, вариабельного потенциала) необходим нагрев до температуры более 50ºС, что значительно выше температуры растений в природных условиях при ясной, жаркой погоде. Таким образом, можно предположить, что индукция дистанционных электрических сигналов может происходить при комбинированном локальном действии стрессоров (свет высокой интенсивности в сочетании с умеренным нагревом); проверка этой гипотезы и являлась целью настоящей работы.

Эксперименты проводили на мягкой яровой пшенице (*Triticum aestivum* L.). Растения выращивали в вегетационной комнате на универсальном грунте в горшках по 4 растения при температуре около 24ºС и 16-часовом световом дне. Эксперимент начинали при достижении растениями возраста 13-14 дней. Электрофизиологические исследования осуществляли методом экстраклеточного измерения поверхностного потенциала (сдвиг в положительную сторону соответствует гиперполяризации, а в более отрицательную сторону – деполяризации). Измерительные электроды располагались на разных расстояниях от зоны воздействия света и нагревания, электрод сравнения располагался у основания побега растения на границе с землёй. Для индукции электрических сигналов производили одновременное воздействие на лист растения света (540 мкмоль $м^{-1}с^{-1}$, синий свет) в течение 10 мин и нагревания (до конечной температуры 40ºС при помощи элемента Пельтье), который действовал на растение до конца эксперимента. Измерения фотосинтетических параметров осуществляли с использованием Open FluorCam FC 800-O/1010, расчет индекса проводимости устьиц осуществляли на основании тепловизионных измерений с использованием тепловизора testo 885-2.

При исследовании электрических сигналов было показано, что непосредственно около зоны воздействия стрессоров вначале возникала деполяризация, часто сменяющаяся гиперполяризацией. При этом такой ответ возникал в случае действия комбинации стрессоров или только локального нагревания. В случае одиночного воздействия локального освещения наблюдалась только небольшая гиперполяризация. На расстоянии 2 и 5 см от зоны воздействия наблюдались только сигналы гиперполяризации. При этом в случае комбинации стрессоров и нагрева амплитуды сигналов были выше, чем в случае действия только освещения. Таким образом, можно предположить, что комбинация локального нагревания и освещения вызывала деполяризационный ответ, который, распространяясь, индуцировал гиперполяризацию. При этом выявленные электрические сигналы у пшеницы могут быть охарактеризованы как системные потенциалы. По-видимому, именно тепловое воздействие оказывает решающий вклад в генерацию и распространение таких сигналов по растению, однако, свет также может вызывать электрические реакции.

Далее проводилась оценка влияния выявленных сигналов на фотосинтез и транспирацию. Комбинация локального нагрева и освещения и последующее распространение гиперполяризационных сигналов приводили к снижению квантового выхода фотосистемы II (Y(PSII)) и к возрастанию нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла (NPQ) у листьев пшеницы на белом актиничном свету. Выраженный эффект наблюдался на расстоянии 3 см от зоны воздействия стрессоров, а в случае NPQ – также на расстоянии 5 см. На больших дистанциях ответы фотосинтеза не наблюдались. Анализ индекса проводимости устьиц (Ig) показал, что локальное воздействие света и нагревания приводило к снижению устьичной проводимости в интактных частях растения, при этом эффект уменьшался с увеличением расстояния до зоны воздействия.

Исследование ответов фотосинтеза и транспирации показало, что одиночное действие локального освещения не вызывало изменений Y(PSII), NPQ и Ig. Напротив, одиночное действие локального нагрева вызывало снижение Y(PSII) и возрастание NPQ, которые были сходны по форме и амплитуде с ответами фотосинтеза, наблюдающимися при комбинированном действии стрессоров. С другой стороны, локальный нагрев слабо влиял на индекс устьичной проводимости. Таким образом, полученные результаты подтверждают участие выявленных электрических сигналов в формировании фотосинтетических ответов растения, так как локальное освещение, которое вызывает лишь электрические сигналы с низкой амплитудой, не приводит к индукции фотосинтетических ответов. Наоборот, локальный нагрев или комбинация локального нагрева и освещения, которые вызывают более выраженные электрические ответы, влияют на фотосинтез.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 21-74-10088.

Влияние аридности климата на мезоструктуру углерод-ассимилирующих органов у степных растений Южного Урала

Юдина П.К.[*, **] ***Иванов Л.А.***[*, **]***, Ронжина Д.А.***[*, **]***, Иванова Л.А.***[*, **]

[*] Тюменский Государственный Университет, ул. Володарского, 6, Тюмень, Россия;
[**] Ботанический сад УрО РАН ул. 8 Марта, 202а, Екатеринбург, Россия.
yudina.p@yandex.ru

Параметры углерод-ассимилирующих органов и тканей являются важным индикатором адаптации растений к аридности климата. Их исследование вдоль природно-климатических градиентов позволяет прогнозировать изменения растительности при разных климатических сценариях. Нами изучено более 50 видов доминантов, субдоминантов и часто встречающихся видов степных растений вдоль градиента аридности на Южном Урале. Виды исследованы в четырех районах, расположенных от 56°с.ш. до 51° с.ш. в лесостепной и степной природно-климатических зонах. С севера на юг происходило снижение индекса аридности от 40 до 22, то есть увеличение аридности климата. Исследования проводили с помощью методики мезоструктуры листа. Около 40% видов были представлены ведущими для степных сообществ семействами *Asteraceae, Poaceae* и *Rosaceae*. Изученные виды имели разные структурно-функциональные типы листьев – дорзовентральным и изопалисадный трав и кустарничков, граминоидный (злаки и осоки). В наиболее аридных районах увеличивалась доля видов с изопалисадным мезофиллом и уменьшалась – с дорзовентральным. Выявлено, что фактор «Семейство» влиял только на число (F=8.4**) и размеры (F=4.2*) клеток мезофилла. Фактор «Аридность климата» влиял на число клеток мезофилла листа и число хлоропластов в единице площади листа, а также отношение общей площади поверхности клеток (ИМК) и хлоропластов к площади листа (ИМХ). В районе с максимальной аридностью климата (настоящая степь) наблюдали максимальные значения ИМК и ИМХ по сравнению с лесостепными районами. Это связано с необходимостью увеличения углерод-ассимилирующей поверхности внутри листа для абсорбции CO_2 в условиях водного дефицита и избыточной инсоляции. Виды с изопалисадным строением мезофилла обладали значимо более высокими значениями ИМК по сравнению с видами с дорзовентральным. Полученные для степных растений Южного Урала результаты подтверждают выявленные ранее закономерности для растений степных сообществ Поволжья, Западного Забайкалья и Монголии. Фактор аридности, в сравнении с систематическим положением и морфотипом листа, играет ведущую роль в варьировании интегральных параметров мезофилла листа. Увеличение внутрилистовой углерод-ассимилирующей поверхности необходимо для поддержания углеродного баланса в условиях увеличения аридности климата.

Работа выполнена в рамках бюджетной темы Ботанического сада УрО РАН; проекта Министерства науки и высшего образования РФ FEWZ-2020-0009

Взаимодейсвие растений с другими организмами

Features of priming in grapes with different resistance to diseases under different types of sensitizing effects

Sundyreva M.A., Mishko A.E., Lutsky E.O., Vyalkov V.V.

North Caucasian Federal Scientific Center for Horticulture, Viticulture and Winemaking, Krasnodar, Russia.
taurim2012@yandex.ru

Priming of plants with natural agents, including microorganisms, is an interesting alternative to chemical methods of protection in plant growing and in viticulture, in particular. However, the molecular mechanisms of this phenomenon are not fully understood.

The experiment was carried out on leaf disks of grapes susceptible to downy mildew Muscat belyy, immune Kober 5BB, and tolerant Vostorg. In the work, we used treatments with priming agents BS - Bacillus subtilis, TV - Trichodérma víride (antagonistic microorganisms), SC - Saccharomyces cerevisiae (natural symbiont of grapes), Vi - Venturia inaequalis (a pathogen incompatible for grapes), as well as the effect of alcoholic and aqueous extracts of SC and Vi as stimulating substances. Combinations of immunostimulating phytohormones salicylic acid (SA) and methyl jasmonate (MeJa) were tested in the work on the intensity of grape responses to priming by microorganisms. The results of laboratory studies have been confirmed by field experiment.

As a result of the work carried out on the studied grape varieties, treatment with the SC was the most effective. The use of the antagonistic BS, TV did not show significant efficacy on the downy mildew tolerant cultivar Vostorg, however, BS and TV were effective on the susceptible Muscat belyy. Live yeast Saccharomyces cerevisiae, applied to grape leaves 24 hours before Plasmopara viticola infection, is most biologically effective. This efficiency is most likely associated not only with the stimulation of defense reactions, but also with the pronounced antagonistic effect of yeast in relation to downy mildew. This fact is confirmed by an increase in the development of mildew with a decrease in the concentration of yeast cells applied to grape leaves, as well as during treatments with both aqueous and alcoholic extracts of yeast.

The Kober 5BB was distinguished by a higher basic activity of antioxidant enzymes and a low content of MDA. In response to stimulating treatments with microorganisms, there was a decrease in the activity of superoxide dimutase and peroxidases, activation of polyphenol oxidase, a decrease in the level of MDA, and the accumulation of viniferin. The immune cultivar was distinguished by a high level of lipoxygenase expression, which ensures the synthesis of jasmonates. In an immune cultivar, BS and TV initiates the expression of jasmonate-linked genes, and SC initiates salicylate-linked genes. Protective genes are intensely expressed in the immune cultivar in response to all treatments, and in the susceptible cultivar only in response to SC. It is possible to assume a different set of cellular receptors in immune and downy mildew-susceptible cultivars, which make it possible to perceive interactions with microorganisms and activate protective reactions.

Priming with microorganisms occurs more efficiently in the presence of additional treatment with methyl jasmonate. Additional treatment with salicylic acid is significantly less effective than treatment with methyl jasmonate.

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

Взаимодействие транспортных белков вируса зеленой пятнистости гибискуса

***Атабекова А.К.*[*], *Лазарева Е.А.*[*], *Скулачев Б.И.*[*], *Лезжов А.А.*[**], *Соловьева А.Д.*[*], *Морозов С.Ю.*[*, **], *Соловьев А.Г.*[*, **]**

[*] Кафедра вирусологии, Биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Ленинские горы 1, стр. 12, Москва, Россия;
[**] Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Ленинские горы 1, стр. 40, Москва, Россия.
asya_atabekova@mail.ru

Межклеточный транспорт вирусов в растениях происходит через плазмодесмы и является активным процессом, требующим участия кодируемых вирусным геномом транспортных белков. Транспортные белки обеспечивают внутриклеточный транспорт вирусного генома к плазмодесмам и модифицируют их внутреннюю структуру, что приводит к увеличению пропускной способности каналов плазмодесм и обеспечивает возможность перемещения вирусного генома в соседние клетки. Помимо этого, процесс межклеточного транспорта вирусов растений тесно связан с репликацией вирусного генома, что обеспечивается способностью транспортных белков взаимодействовать с вирусными репликазами и модифицировать мембраны эндоплазматического ретикулума (ЭПР), создавая сайты репликации вирусного генома. Вирус зеленой пятнистости гибискуса (ВЗПГ) имеет (+)РНК-геном, состоящий из двух РНК. Недавно было обнаружено, что РНК2 ВЗПГ содержит новый блок транспортных генов, включающий два гена и названный Binary Movement Block (BMB). BMB кодирует транспортные белки BMB1 и BMB2. Белок BMB1 содержит домен НТФазы/хеликазы и, как предполагают, способен взаимодействовать с вирусной геномной РНК, образуя комплекс, предназначенный для транспорта через плазмодесмы. Белок BMB2 является интегральным мембранным белком, взаимодействующим с мембранами ЭПР. Показано, что белок BMB2 имеет структурное и функциональное сходство с ретикулонами, клеточными белками, которые способны создавать кривизну липидного бислоя и необходимы для формирования трубочек кортикального ЭПР и поддержания их структуры. Подобно ретикулонам, белок BMB2 имеет W-подобную конформацию в мембране ЭПР, способен создавать кривизну мембраны и локализоваться в участках мембран, имеющих максимальную кривизну. Белок BMB2 обнаруживается в мембранных тельцах на периферии клетки, которые являются производными мембран ЭПР и локализованы вблизи плазмодесм. BMB1 локализуется диффузно в цитоплазме и нуклеоплазме, однако в присутствии BMB2 белок BMB1 меняет свою локализацию и ре-локализуется в BMB2-содержащие периферические тельца и внутреннюю полость плазмодесм, а также транспортируется в соседние клетки. Эти данные позволяют предполагать, что белки BMB1 и BMB2 взаимодействуют в клетке. Для проверки этой гипотезы был проведен делеционный мутагенез белка BMB1 и сайт-направленный мутагенез белка BMB2. С использованием конфокальной микроскопии изучали влияние внесенных мутаций на локализацию беков BMB1 и BMB2. Также была исследована способность каждого мутанта BMB2 направлять белок BMB1 в периферические BMB2-содержащие тельца, а для мутантов BMB1 - способность транспортироваться в такие тельца в присутствии белка BMB2 дикого типа. Полученные данные показывают, что во взаимодействии двух транспортных белков ВЗПГ участвуют С-концевой район белка BMB1 и N-концевой район белка BMB2.

Работа поддержана грантом Российского Научного Фонда 22-14-00063.

Влияние липополисахарида ризосферной бактерии *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 и его модифицированных производных на рост микрорастений *Solanum tuberosum* L. в условиях *in vitro*

Бурыгин Г.Л.*[*,**,], Демидова А.С.*[*], Кузнецова Е.В.*[*], Сигида Е.Н.*[**], Ткаченко О.В.*[***]

[*] Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, ул. Астраханская, 83, Саратов, Россия;
[**] Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов ФИЦ СНЦ РАН, просп. Энтузиастов, 13, Саратов, Россия;
[***] Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова, Театральная пл., 1, Саратов, Россия.
burygingl@gmail.com

Высшие наземные растения и ризосферные бактерии прошли длительный путь коэволюции, в процессе которого у обеих групп организмов выработались механизмы регулирования растительно-микробного взаимодействия, приводящие к взаимовыгодному сосуществованию в почве. Ответные реакции растений на бактеризацию в основном сводятся стрессовым реакциям, направленных на сдерживание размножения микроорганизмов, питающихся растительными метаболитами. Происходящее при этом временное угнетение роста растений компенсируется повышением устойчивости к фитопатогенам. Ассоциативные ризобактерии, в свою очередь, способны снижать активность реакций фитоиммунитета и активировать ростовые процессы в растениях.

Рост-стимулирующие ризобактерии широко используются в современной агробиотехнологии в качестве биоудобрений. Однако, бактеризация растений *in vitro* не всегда эффективна из-за активного бактериального роста за счёт компонентов среды культивирования. Одним из перспективных направлений оптимизации роста и развития микрорастений в условиях *in vitro* является использование фитостимулирующих бактериальных элиситоров: флагеллинов, экзополисахаридов, липополисахаридов (ЛПС) и других вторичных метаболитов. Для повышения эффективности данной технологии актуальным является изучения механизмов действия микробных молекул на растения.

В данной работе было исследовано действие ЛПС штамма *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2, выделенного нами ранее из ризосферы *Solanum tuberosum* L., на рост микроклонов картофеля сорта Кондор в условиях *in virto*. Также были исследованы фитостимулирующие свойства модифицированных производных этого ЛПС, полученных после кислотного гидролиза – 2 % AcOH, 100 °C, 3 ч (О-полисахарид (ОПС) и липид А) и щелочного гидролиза препаратов ЛПС и ОПС – 12 % NH_4OH, 37 °C, 16 ч (дезацилированные ЛПС (ДЛПС) и ОПС (ДПС)).

На первом этапе работы нами была установлена рост-стимулирующая активность ЛПС штамма *O. cytisi* IPA7.2 в отношении микрорастений картофеля. При внесении в среду культивирования растений ЛПС в концентрации 10 мкг/мл было выявлено достоверное увеличение длины и сырой массы побегов, а также количества корней и их сырой и сухой массы. При этом, рост-стимулирующий эффект ЛПС был выше, чем при инокуляции микрорастений бактериальной суспензией (10^6 клеток/мл) этого же штамма, что объясняется высокой микробной нагрузкой на растения при бактериальном росте на среде Мурасиге-Скуга.

Для выявления наиболее активных фрагментов ЛПС по отношению к растениям нами были получены модифицированные препараты ЛПС (ОПС, ДПС, ДЛПС и липид А), для которых было проведено сравнение физико-химических и антигенных свойств, продемонстрировавших различия в способности формировать надмолекулярные частицы и взаимодействовать с специфическими антителами к ЛПС. В эксперименте по изучению влияния полученных препаратов на рост растений в условиях *in vitro* к 7-суточным микрорастениям картофеля сорта Кондор были добавлены исследуемые препараты до концентрации 10 мкг/мл, и через 2 недели измерены морфометрические показатели растений. Установлено, что препараты ОПС и липида А достоверно влияют на рост побега микрорастений картофеля, а также существенно повышают количество, длину и сухую массу корней. При этом, растения выращенные в присутствии дезацилированных препаратов (ДЛПС и ДПС) достоверно не отличались от контрольных. Таким образом, ацетилирование полисахаридной части молекул ЛПС является важным в установлении успешного симбиоза бактерий и растений.

Полученные данные свидетельствуют о том, что ОПС и липид А, полученные из ЛПС штамма *O. cytisi* IPA7.2, являются наиболее активными частями молекулы в отношении микрорастений картофеля. При этом нестехиометрическое ацетилирование ОПС существенно снижает фитостимулирующую активность ЛПС, что может быть использовано для эффективного выбора перспективных бактериальных элиситоров.

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда, проект № 22-26-00293.

Влияние фунгицидов Винтаж МЭ и Титул Дуо на развитие симбиотических клубеньков гороха (*Pisum sativum* L.)

Горшков А.П., Кусакин П.Г., Цыганова А.В., Цыганов В.Е.

Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, ш. Подбельского, 3, Пушкин 8, Санкт-Петербург, Россия.
artemius1993@yandex.ru.

Для изучения действия на бобово-ризобиальный симбиоз фунгицидов класса триазолов (Винтаж МЭ и Титул Дуо), используемых в агротехнике бобовых растений, была проведена серия экспериментов на сортах гороха Frisson и Finale. Опрыскивание фунгицидами производилось на 10-й и 20-й дни после инокуляции растений эффективным штаммом *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*. Винтаж МЭ был использован в концентрациях 1:200 (рекомендованная производителем), 1:100 и 1:20; Титул Дуо в концентрациях 1:500 (рекомендованная производителем), 1:250 и 1:50. Сбор растений осуществлялся на 10-е сутки после обработки. Растения гороха после обработки фунгицидами демонстрировали замедление роста и угнетение развития симбиотических клубеньков. Данные реакции проявлялись сильнее при увеличении концентрации фунгицидов. Обработка фунгицидами на более позднем сроке оказывала менее выраженное влияние на развитие растений. Так, при обработке Винтажом МЭ не было обнаружено значимых отличий обработанных растений от контроля, в то время как в случае Титул Дуо значимые различия наблюдались лишь при обработке самой высокой концентрацией.

Для транскриптомного анализа были взяты клубеньки гороха сорта Frisson, обработанные на раннем сроке фунгицидом Титул Дуо в концентрации 1:500. Анализ дифференциально экспрессирующихся генов показал, что при обработке свою экспрессию значимо увеличивали 30 генов, а понижали 13 генов. В ходе анализа функции этих генов (с использованием аннотации, предоставляемой с референсным геномом гороха, а также программы Blastx) были обнаружены две группы генов с повышенной экспрессией, продукты которых участвуют в модификации клеточных стенок, а также в развитии защитных реакций.

При обработке растений в рекомендованных концентрациях обоих фунгицидов в клетках клубеньков сортов Frisson и Finale были обнаружены следующие аномалии: просветление и истончение клеточных стенок, накопление полигидроксибутирата (ПОБ) в бактероидах. При концентрациях 1:100 (Винтаж МЭ) и 1:250 (Титул Дуо) аномалии клеточных стенок были выражены сильнее – наблюдалось их набухание, искривление и просветление во всех гистологических зонах клубенька. Стенки инфекционных нитей также подвергались набуханию и просветлению. В бактероидах наряду с ПОБ были выявлены крупные сферические включения средней электронной плотности неизвестной природы. При самых высоких концентрациях 1:20 (Винтаж МЭ) и 1:50 (Титул Дуо), наряду с вышеописанными изменениями, в инфицированных клетках присутствовали бактероиды аномальной формы и плотности, а также мультивезикулярные тельца в центральной вакуоли.

Таким образом, фунгициды Винтаж МЭ и Титул Дуо оказывают негативный эффект на ультраструктуру клубеньков, что проявляется в изменениях структуры растительной клеточной стенки, стенки инфекционной нити и дегенеративных изменениях симбиосом. Транскриптомный анализ показал повышение экспрессии двух групп генов, продукты которых участвуют в модификации клеточных стенок, а также в развитии защитных реакций.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках соглашения № 075-15-2020-920 от «16» ноября 2020 г. о предоставлении гранта в форме субсидий из федерального бюджета на осуществление государственной поддержки создания и развития научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего».

Досимптомное выявление вируса картофеля X в неинокулированных участках листьев *Nicotiana benthamiana* с помощью оптических методов

Гришина А. И., Гринберг М.А., Хлопков А.Д., Агеева М.Н., Здобнова Т.А., Брилкина А.А., Воденеев В.А.

Университет Лобачевского, 603022, пр. Гагарина, 23, г. Нижний Новгород, Россия.
79159532707@yandex.ru

Фитопатогены являются одной из существенных причин потерь урожая. Несмотря на то, что в настоящее время в сельском хозяйстве используют в основном сорта растений, обладающие достаточно высокой устойчивостью к заражению различными патогенами и их негативному воздействию, ежегодно во всем мире наблюдается снижение урожайности сельскохозяйственных культур на 10–20% из-за болезней растений, что представляет серьезную угрозу глобальной продовольственной безопасности. Раннее выявление начальной стадии болезни особенно важно, так как это позволяет снизить потери урожая за счет своевременной локализации очага заражения и улучшить его качество за счет применения пестицидов и фунгицидов в меньшем количестве. В связи с этим методы детектирования инфекций в растениях нуждаются в развитии.

Целью данной работы является поиск оптических методов, способных определить заражение растений на ранних этапах.

Исследования проводились на четырёхнедельных растениях *Nicotiana benthamiana*, в которых наблюдали распространение вируса PVX, имеющего сшитый с белком оболочки флуоресцентный белок GFP. Инфицирование растений проводили с помощью агоробактериальной инфильтрации четвёртого настоящего листа.

В качестве методов обнаружения стресса применялись PAM-флуориметрия, гиперспектаральный имиджинг (HS) и тепловидение (IR). Замеры производились с помощью IMAGING-PAM M-Series MAXI, тепловизора Testo 885, гиперспектральной камерой Specim IQ. Замеры производили каждый день в одно и то же время в течение 10 дней. В неинокулированном (10 листе) листе табака регистрировали вызванные инфицированием изменения параметров флуоресценции хлорофилла (квантовый выход фотосистемы II (YII) и нефотохимического тушения флуоресценции (NPQ)) и сравнивали с пространственным распределением вируса, выявляемым по флуоресценции GFP в составе вирусного капсида.

Метод IR позволяет быстро получать изображения и показал хорошую применимость в детекции засухи, но в отношении вирусной инфекции максимальная разница между опытными и контрольными растениями невелика и может быть незаметна из-за температурной динамики листьев с разных ярусов. Метод HS требует больше времени на съемку и обработку данных, но при этом позволяет детектировать вирусное заражение на ранней стадии и слабо зависит от ярусности листьев. Метод PAM хорошо показал себя в детекции вирусного стрессора, но данный метод требует затемнения, насыщающих вспышек - т.е. условий, которые можно создать в рамках лаборатории или теплицы, но в больших масштабах получение данных этим методом затруднено. В итоге, выбор метода будет определяться характеристиками с/х культур, площадью посадок и условиями проведения измерений.

Работа выполнена в ходе выполнения проекта НЦМУ «Центр фотоники» при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, договор № 075-15-2020-927.

Молекулярно-генетическая и физиологическая характеристика растений люцерны *Medicago truncatula* с отредактированным геном *MtCLE35*

Добычкина Д.А., Лебедева М.А., Лутова Л.А.

Санкт-Петербургский государственный университет, кафедра генетики и биотехнологии,
Университетская наб., 7/9, Санкт-Петербург, Россия.
dobichkinadaria@gmail.com

Азот является одним из трех основных макроэлементов, необходимых для роста растений. Хотя азот является наиболее распространенным элементом в атмосфере, большинство растений не могут напрямую использовать атмосферный газообразный азот. Однако бобовые растения научились преодолевать эту проблему: в условиях нехватки азота они способны образовывать строго регулируемые симбиотические отношения с азотфиксирующими почвенными бактериями, известными как ризобии. Такое взаимодействие приводит к образованию на корнях растений новых органов – симбиотических клубеньков, в которых происходит процесс азотфиксации. Бактерии осуществляют фиксацию молекулярного азота из атмосферы и превращают в ион аммония, который является доступным для растения и идет на строение органических молекул. Растения, в свою же очередь, снабжают бактерии веществами, содержащими углерод, продуктами фотосинтеза. Важно отметить, если в почве содержатся доступные соединения азота, растение преимущественно будет использовать именно их для восполнения собственного минерального статуса и, следовательно, клубеньки образовываться не будут.

Формирование и функционирование азотфиксирующих клубеньков требует больших энергетических ресурсов растения, поэтому эти процессы находятся под системным контролем со стороны растения. У бобовых растений известна такая система, как авторегуляция клубенькообразования, которая ограничивает формирование избыточных симбиотических клубеньков. Мобильными компонентами авторегуляции клубенькообразования являются определенные пептиды CLE. Пептиды CLE, синтезируемые в развивающихся на корнях клубеньках, транспортируются по ксилеме из корней в побег, где происходит их взаимодействие со специфическими рецепторами – CLAVATA1 (CLV1)-подобными киназами и вследствие этого взаимодействия происходит выработка ответного сигнала, блокирующего формирование новых клубеньков на корнях по механизму отрицательной обратной связи.

Наша работа посвящена изучению роли гена *MtCLE35*, кодирующего один из пептидов, вовлеченных в системный контроль развития симбиотических клубеньков у люцерны *Medicago truncatula*. Экспрессия гена *MtCLE35* активируется как при воздействии ризобий, так и при обработке нитратом, а его сверхэкспрессия в трансгенных корнях подавляет развитие симбиотических клубеньков (Lebedeva et al., 2020). Таким образом, MtCLE35 опосредует ингибирование закладки клубеньков в ответ на присутствие нитрата, а также по механизму обратной связи как компонент системы авторегуляции клубенькообразования. Для выяснения механизмов действия гена *MtCLE35* в контроле развития были получены растения, трансформированные генетической конструкцией для редактирования гена *MtCLE35* с помощью системы CRISPR-Cas. Среди растений поколения T0 было проанализировано 23 растений, и из них у 20 растений были выявлены изменениями в гене *MtCLE35,* тогда как у трех растений из всех проаналищзированнх ген *MtCLE35* оказался неотредактированным. Нами было получено поколение T1 и для части из них мы провели генотипирование. Были проанализированы потомки от шести различных растений, всего около 10-13 растений в каждой семье. Среди потомков одной семьи растений crispr-1 в гене *MtCLE35* была обнаружена вставка одного нукдеотида, расположенная за три нуклеотида до последовательности PAM, т.е. в предполагаемом сайте разрезания эндонуклеазой Cas9. Интересно, что у потомков данной семьи обе аллели оказались со вставкой одного нуклеотида: в одной аллели оказалась вставка G, в другой аллели - вставка C, были выявлены как гомозиготные, так и гетерозиготные растения. У таких растений продукт гена *MtCLE35* должен быть нефункциональным за счет сдвига рамки считывания. Такая же аллель со вставкой дополнительного нуклеотида в этом же сайте была обнаружена еще в двух семьях, но на ряду с ней были также выявлены и аллели, содержащие делеции 3 или 15 нуклеотидов в гене *MtCLE35*. Кроме того, еще в двух семьях были выявлены делеции 1 и 5 нуклеотидов, которые должны приводить к сдвигу рамки считывания и образованию нефункционального белкового продукта. Были выявлены как гомозиготы по таким делециям, так и гетерозиготные потомки. Также у одной семьи была обнаружена аллель, содержащая протяженную делецию в гене *MtCLE35* – выпадение 63 нуклеотидов, которая должна привести к выпадению 21 аминокислоты из белкового продукта: к потери значительного участка вариабельного домена белка-предшественника пептида MtCLE35.

В настоящее время у отредактированных растений мы проводим оценку способности образовывать симбиотические клубеньки при различном содержании азота, также мы планируем провести анализ их транскриптома и метаболома. Полученные результаты позволят понять механизм действия пептида MtCLE35 в нитрат-зависимом ингибировании развития клубеньков, а также и в других нитрат-регулируемых процессах.

Работа поддержана грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках соглашения № 075-15-2020-922 от 16.11.2020 на создание и развитие Научного центра мирового уровня "Агротехнологии будущего".

Ризобактерии в антиоксидантной защите растений картофеля при осмотическом стрессе *in vitro* и при адаптации *ex vitro*

***Евсеева Н.В.*[*], *Ткаченко О.В.*[**], *Денисова А.Ю.*[**], *Каргаполова К.Ю.*[**], *Бурыгин Г.Л.*[*,**], *Позднякова Н.Н.*[*]**

[*] Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Саратовский научный центр РАН», просп. Энтузиастов, 13, Саратов, Россия;
[**] ФГБОУ ВО Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова, Театральная пл., 1, Саратов, Россия.
evseeva_n@ibppm.ru

Изучение функционирования и регуляции про/антиоксидантных систем в растениях является важным звеном в понимании ответной реакции растений на внешние воздействия, включая стрессовые. В свою очередь, изменение уровня активности антиоксидантных ферментов может быть одним из основных механизмов стрессоустойчивости растений, в частности индуцируемой ризобактериями.

В данной работе были исследованы механизмы антиоксидантной защиты микроклонов картофеля при инокуляции рост-стимулирующими ризобактериями при осмотическом стрессе в модельных условиях *in vitro* и при адаптации к условиям *ex vitro* в аэропонной установке.

Были использованы микрорастения картофеля (*Solanum tuberosum* L.*)* сорта Невский и Кондор из коллекции микроклонов картофеля *in vitro* ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ. Растения инокулировали консорциумом штаммов ризосферных бактерий из коллекции ризосферных микроорганизмов ИБФРМ РАН на этапе выращивания in vitro. Бактерии добавляли в среду Мурасиге-Скуга последовательно: *Azospirillum baldaniorum* Sp245 (0 сутки культивирования) и *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 (14 сутки культивирования) в концентрации 10^6 кл/мл. Осмотический стресс создавали путем добавления в среду культивирования полиэтиленгликоля (М.м. ~6000 Да) в концентрации, соответствующей осмотическому давлению в среде выращивания –0,3 МПа. При исследовании адаптации микрорастений к условиям *ex vitro* 30-суточные растения высаживали в аэропонную установку «Урожай 9000».

Оценивали содержание малонового диальдегида (МДА), активность антиоксидантных ферментов (пероксидазы и каталазы) в листьях на 7 сутки действия стресса и на 7 сутки постстрессовой репарации *in vitro*, а также на 0, 1, 7, 14 и 21 сутки выращивания растений в аэропонной установке.

Показано, что при осмотическом стрессе бактеризация приводила к повышению активности каталазы в листьях, что коррелировало со снижением уровня МДА, как продукта перекисного окисления липидов в растительных клетках и способствовала ослаблению окислительного стресса в растениях.

Активность пероксидазы увеличивалась при стрессе, как в опытных, так и в контрольных вариантах. При выращивании микроклонов картофеля в аэропонной установке бактеризация приводила к повышению активности, как каталазы, так и пероксидазы. Уже на 1 и 7 сутки адаптации в условиях аэропонной установки активность каталазы и пероксидазы в листьях бактеризованных растений была выше в 1,5–2 раза по сравнению с неинокулированными растениями. На 14 и 21 сутки выращивания показатели активности каталазы и пероксидазы выравнивались в контроле и опыте. В свою очередь, бактеризация способствовала уменьшению содержания МДА в листьях растений на 1 и 7 сутки культивирования и постепенному выравниванию МДА к 14 суткам по отношению к контрольным вариантам. Использование бактерий улучшало также морфометрические параметры микроклонов картофеля, достоверно увеличивая длину побега и количество корней.

В целом, ризобактерии способствовали повышению активности каталазы и пероксидазы, а также уменьшению содержания МДА в листьях микроклонов картофеля, что приводило к смягчению действия окислительного стресса на растения, к более быстрому восстановлению растений после осмотического стресса и активной адаптации их к условиям аэропонной установки.

Полученные результаты расширяют представление об эффектах инокуляции растений ризобактериями и антиоксидантной защиты растений в модельных условиях осмотического стресса *in vitro* и при адаптации к условиям *ex vitro*, а также позволяют рекомендовать использование рассмотренных нами бактерий в составе комбинированных биоудобрений.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-26-00087, https://rscf.ru/project/22-26-00087/.

Блокирование апопластного транспорта увеличивает уровень аквапоринов плазмолеммы в корнях растений ячменя, инокулированных ризосферными бактериями

Кудоярова Г.Р., Веселов Д.С., Архипова Т.Н., Шарипова Г.В., Ахиярова Г.Р., Галин И.Р., Мартыненко Е.В., Сельдимирова О.А., Нужная Т.В.

Уфимский институт биологии УФИЦ РАН, пр. Октября, 69, г. Уфа, Россия, 3472356247.
guzel@anrb.ru

Приток воды из корней компенсирует ее испарение листьями, предотвращая падение тургора и закрытие устьиц, что обеспечивает поддержание газообмена, роста и, в конечном итоге, - урожайности растений. Движение воды происходит по апопласту и через мембраны клеток и зависит от их проводимости. Апопласт клеток с первичными стенками обладает высокой гидравлической проводимостью. Однако отложение пластин суберина и лигнина в поясках Каспари резко снижает проводимость для движения воды по апопласту. Показано, что ряд стрессовых воздействий (например, засоление и засуха) ускоряет и усиливает образование апопластных барьеров. Блокирование апопластного транспорта воды и растворенных в ней ионов защищает растение от неконтролируемого проникновения токсичных веществ и патогенных микроорганизмов, а также - от потерь воды при ее транспорте в побег через корни, расположенные в верхних подсыхающих слоях почвы. Однако усиление образования апопластных барьеров под влиянием засухи и засоления снижает гидравлическую проводимость, что является одной из причин торможения роста на фоне этих стрессовых воздействий. Ранее нами было обнаружено, что инокуляция в ризосферу некоторых штаммов псевдомонад и бацилл ускоряет формирование поясков Каспари, что способствует поддержанию ионного гомеостаза растений. При этом не было зарегистрировано существенного снижения оводненности растений, а их рост ускорялся под влиянием бактерий. Важно было проверить, как присутствие бактерий в ризосфере влияет на гидравлическую проводимость корней. Мы предположили, что увеличение уровня аквапоринов в корнях могло компенсировать ускоренное формирование апопластных барьеров под действием бактерий. Поскольку известно, что абсцизовая кислота (АБК) влияет как на отложение лигнина, так и на уровень аквапоринов, важно было оценить способность бактерий синтезировать этот гормон и влиять на его содержание в растениях.

Эксперименты проводили с растениями ячменя сорта Прерия, которые выращивали в песке, пропитанном питательным раствором Хогланда-Арнона с микроэлементами. Оводненность песка поддерживали на уровне 70% от полной влагоемкости путем регулярного полива, освещенность – на уровне 400 мкмоль $см^{-2}с^{-1}$. Для инокуляции использовали штамм бактерий *Pseudomonas mandelii* IB-Ki14 из коллекции Уфимского института биологии. Во время посадки корни проростков и песок вокруг них обр

абатывались одним миллилитром бактериальной суспензии (10^8 КОЕ на мл). Через 6 дней после бактеризации, бритвой делали поперечные срезы из базальной части корней и на удалении 3 см от их кончиков, а затем окрашивали их раствором берберина для выявления лигнина и суберина с помощью конфокальной микроскопии. Уровень транскриптов генов, кодирующих *HvPIP2* аквапорины ячменя оценивали с помощью ПЦР в реальном времени с использованием праймеров, подобранных на основе имеющейся в базе данных информации о последовательности нуклеотидов в этих генах. Для проведения иммунолокализации отрезки корней фиксировали карбодиимидом и после дегидратации заключали в метакрилатную смолу JB-4. Присутствие аквапоринов плазмалеммы на срезах базальной части корней выявляли с помощью специфичных антител кролика против HvPIP2 аквапоринов ячменя по флуоресценции вторичных антител против иммуноглобулинов кролика, меченных красителем Alexa fluor 555. Для выявления АБК применяли специфичные антитела к этому гормону и те же антитела использовали для количественного определения АБК в питательном растворе бактерий с помощью твердофазного иммуноферментного анализа. Гидравлическую проводимость рассчитывали по соотношению скорости транспирации и градиента водного потенциала между листьями и питательным раствором. Окрашивание срезов корней берберином выявило появление поясков Каспари в эндодерме и экзодерме ближе к кончику корней инокулированных растений и усиление лигнификации и отложения суберина под влиянием бактерий. Тем не менее, инокуляция бактерий не приводила к достоверному снижению оводненности листьев и гидравлической проводимости растений по сравнению с неинокулированными растениями. Оценка уровня транскриптов аквапоринов выявила увеличение экспрессии *HvPIP2;5* в корнях под влиянием бактерий. Результаты иммунолокализации подтвердили данные ПЦР и показали усиление свечения на срезах обработанных бактериями растений в эндо- и экзодерме, а также в коре, и в и в центральном цилиндре в случае применения антител к HvPIP2;5, что свидетельствует об увеличении уровня этих аквапоринов. Таким образом, как оценка уровня аквапоринов в плазмолемме клеток, так и экспрессии кодирующих их генов подтвердили, что повышение активности водных каналов может быть тем механизмом, который не дает гидравлической проводимости упасть, несмотря на блокирование апопластного пути. В культуральной жидкости *P. mandelii* IB-Ki14 обнаружена АБК, что свидетельствует о способности бактерий этого штамма продуцировать данный гормон, а в области экзо- и эндодермы зарегистрировано усиление свечения при использовании антител против АБК. Поскольку известна способность этого гормона стимулировать формирование поясков Каспари и повышать уровень аквапоринов, влияние бактерий на эти процессы можно объяснить как их способностью продуцировать АБК, так и индуцировать синтез эндогенной АБК у растений.

Грант РФН 21-14-00070.

Влияние длительного выращивания трансгенных растений березы и осины с модифицированным метаболизмом азота на почвенные микроорганизмы

***Лебедев В.Г.*[*], *Лебедева Т.Н.*[**], *Шестибратов К.А.*[*]**

[*] Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, пр-т Науки, 6, Пущино, Россия;
[**] Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, ул. Институтская, 2, Пущино, Россия.
vglebedev@mail.ru

Коммерциализация трансгенных растений вызвала необходимость оценки возможных экологических рисков, связанных со взаимодействием с другими организмами. Длительное время эти исследования фокусировались в основном на наземных эффектах: переносе трансгенов в родственные виды, эволюции устойчивых вредителей или воздействии на немишенные организмы. Влиянию на почвенные микроорганизмы уделялось меньше внимания, хотя они участвуют в глобальных почвенных процессах и в значительной степени определяют функционирование наземных экосистем. Исследования в основном проводились с растениями, экспрессирующими Вт-токсины, с их потенциальным воздействием на микрофлору. Практически не изучались растения, у которых для повышения продуктивности была улучшена эффективность использования основного элемента питания – азота, хотя они способны оказывать непосредственное влияния на почвенные микроорганизмы. Также очень мало работ с древесными растениями, которые растут на одном месте много лет и их воздействие на микробов почвы может усиливаться со временем.

Цель работы заключалась в оценке воздействия трансгенных растений березы (*Betula pubescens*) и осины (*Populus tremula* × *P. tremuloides*) с экспрессией гена цитозольной формы глутаминсинтетазы сосны на почвенную микрофлору. По семь линий каждого вида (нетрансгенный контроль, клон с маркерным геном gus и пять клонов с геном GS1) выращивали в природной почве два года в теплице и затем два года в полунатуральных условиях. В конце каждого года оценивали активность десяти внеклеточных ферментов микроорганизмов, включенных в циклы C, N, P, S, и внутриклеточного фермента дегидрогеназы - индикатора микробиологической активности почвы (методы спектрометрии), а также определяли C, N, P микробной биомассы (методы фумигации-экстракции). Также анализировали физико-химические свойства почвы: до посадки растений и после четырех лет выращивания.

Сверхэкспрессия глутаминсинтетазы в растениях березы способствовала изменению габитуса (усиление роста, карликовость), что коррелировало с соотношением C/N в листовом опаде. В растениях осины влияние гена GS1 было менее выраженным. Колебания активности ферментов у трансгенных клонов относительно контроля были разнонаправленными и часто становились несущественными в течение 4-го (реже 3-го) года культивирования. Среди всех ферментов, только активность полифенолоксидазы не изменялась у трансгенных растений по сравнению с контролем. Стабильного (в течение всего периода выращивания) изменения активности не наблюдалось. Только для ферментов N-цикла отмечали последовательные изменения активности в течении трех лет. Активность нитратредуктазы была существенно выше у клона березы F14 GS 2c и существенно ниже у клона F14 GS 9b, тогда как активность протеазы была существенно ниже у клона осины GS (8)1. У растений осины активность дегидрогеназы последовательно возрастала все 4 года (у березы – первые 3 года), что свидетельствует об усилении роста почвенной микрофлоры. В целом, влияние осины на микробов почвы было менее выраженным по сравнению с березой, у которой активности многих ферментов снизились в последний год эксперимента, вероятно, из-за различной реакции на внешние условия. У ряда трансгенных клонов березы отмечалось снижение уровней C, N, P микробной биомассы по сравнению с нетрансгенным контролем, тогда как у клонов осины – повышение, однако для обоих видов эти отклонения были непостоянными.

Физико-химические свойства почвы влияют на количество и состав сообщества почвенных микроорганизмов. После 4 лет эксперимента у трансгенных растений березы с геном GS1 изменилось содержание азота (возрастание у 4 клонов), K^+ (снижение у 5 клонов), соотношение C/N (снижение у 5 клонов), тогда как у растений осины снизилось содержание K^+ у двух клонов с геном GS1. У всех растений обоих видов изменилась текстура почвы с sandy loam на loamy sand по классификации USDA, вероятно, из-за вымывания наиболее мелких фракций.

Эксперимент показал, что трансгенные растения березы и осины с геном глутаминсинтетазы, несмотря на изменения габитуса, не оказали существенного влияния на биомассу и активность почвенных микроорганизмов. Наблюдаемые статистически значимые эффекты трансгенных клонов были временными и не имели устойчивых тенденций. Таким образом, трансгенные деревья с модифицированным метаболизмом азота не оказали негативного воздействия на микрофлору почвы, хотя желательно проведение аналогичных экспериментов в полевых условиях, позволяющих оценить влияние листового опада с измененным соотношением C/N.

Выявление механизмов действия гена *MtCLE35* в системной регуляции развития симбиотических клубеньков у люцерны с помощью транскриптомного анализа и геномного редактирования

Лебедева М.А., Добычкина Д.А., Додуева И.Е., Лутова Л.А.

Санкт-Петербургский государственный университет, Университетская наб. 7/9, Санкт-Петербург, Россия.
m.a.lebedeva@spbu.ru

В ходе симбиоза бобовых растений с почвенными бактериями ризобиями происходит формирование новых симбиотических органов на корнях – азотфиксирующих клубеньков. Развитие клубеньков находится под системным контролем со стороны растения: их количество строго контролируется с помощью системы авторегуляции. Клубеньки формируются только при низком содержании азота, тогда как наличие в среде достаточного количества азота, в частности, нитрата, подавляет развитие клубеньков. Важными участниками авторегуляции клубенькообразования являются пептиды CLE, охарактеризованные у ряда бобовых растений. Ранее нами была показано участие гена *MtCLE35*, кодирующего регуляторный пептид CLE, в контроле численности симбиотических клубеньков у люцерны (Lebedeva et al., 2020). Экспрессия этого гена активируется как в ответ на инокуляцию ризобиями, так и при обработке нитратом. Сверхэкспрессия этого гена под контролем конститутивного промотора 35S приводила к подавлению развития симбиотических клубеньков на корнях люцерны. Однако оставалось не изученным, на какой именно стадии осуществляется блок развития симбиоза при активации гена *MtCLE35*.

Для выяснения механизмов действия пептида MtCLE35 и поиска мишеней пути, им активированного, нами был проведен транскриптомный анализ трансгенных корней со сверхэкспрессией гена *MtCLE35* (MtCLE35-oe) после их инокуляции бактериями ризобиями. В качестве контроля были взяты корни растений со сверхэкспрессией гена *GUS* (GUS-oe), кодирующего репортерный ген бета-глюкуронидазы. Транскриптомный анализ проводили с помощью технологии MACE (Massive Analysis of cDNA Ends, (GenXPro GmbH, Germany). Всего при сравнении образов GUS-oe и MtCLE35-oe в условиях инокуляции бактериями ризобиями было выявлено 889 дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ), из них 714 генов со сниженной экспрессией и 175 генов – с повышенной экспрессией в образцах со сверэкспрессией *MtCLE35*. Среди ДЭГ, экспрессия которых значительно снижена в образцах – ключевые гены-регуляторы симбиотических клубеньков, кодирующие транскрипционные факторы NIN (NODULE INCEPTION), NSP1 (NODULATION SIGNALING PATHWAY 1), NF-YA1/HAP2, а также ERN1 (ETHYLENE-RESPONSIVE TRANSCRIPTION FACTOR 1)). Гены, кодирующие данные транскрипционные факторы, активируются с участием компонентов сигнального каскада, индуцируемого ризобиями. При этом статистически значимого снижения экспрессии генов, кодирующих рецепторы сигнальных молекул ризобий (Nod-факторов), а также генов, кодирующих компоненты сигнального каскада, в частности, кальций/кальмодулин-зависимую киназу DMI3 (DOESN'T MAKE INFECTIONS 3), действующих на самых ранних этапах развития симбиоза, не наблюдалось. Таким образом, регуляторный путь, активируемый пептидом MtCLE35, блокирует развитие симбиотических клубеньков за счет подавления уровней экспрессии генов ключевых транскрипционных факторов, регулирующих программу симбиоза, но при этом не затрагивает самые ранние этапы, связанные с рецепцией Nod-факторов и активацией раннего симбиотического сигнального каскада.

В ходе транскриптомного анализа корней со сверхэкспрессией гена *MtCLE35* в "несимбиотических" условиях (в отсутствие инокуляции ризобиями) было выявлено 104 ДЭГ. Для четырех генов было дополнительно подтверждено увеличение экспрессии в корнях MtCLE35-oe в трех независимых биологических экспериментах. Интересно, что один из таких генов кодирует предполагаемый рецептор пептида MtCLE35.

Кроме того, нами также были получены растения люцерны с нокаутированным геном *MtCLE35* в результате его редактирования с помощью системы cripsr-Cas9. Среди них – гомозиготные растения поколения T1, содержащие вставки одиночных нуклеотидов в кодирующую последовательность *MtCLE35*, а также различные варианты делеций, приводящие к образованию нефункционального белкового продукта за счет сдвига рамки считывания. У полученных растений будет проведена оценка количества симбиотических клубеньков при различном уровне азота в среде, а также других параметров роста и развития.

Работа поддержана грантом РФФИ 20-016-00129 и грантом Санкт-Петербургского государственного университета ID 93020431.

Возбудители розовой снежной плесени: стратегия взаимодействия с растением-хозяином

***Мещеров А.Р.*[*], Церс И.Д.*[*], Гоголева О.А.*[*], Петрова О.Е.*[*], Гоголева Н.Е.*[*], Пономарева М.Л.*[**], Пономарев С.Н.*[**], Гоголев Ю.В.*[*], Горшков В.Ю.*[*]**

[*] Казанский институт биохимии и биофизики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук», ул. Лобачевского 2/31, г. Казань, РФ;
[**] Татарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства ФИЦ Казанский научный центр, ул. Оренбургский тракт, 48, Казань, РФ.
strosaz125@gmail.com

Розовая снежная плесень это опасное заболевание озимых зерновых культур, вызываемое психротолерантным (холодоустойчивым) аскомицетом *Microdochium nivale.* Ежегодный ущерб от этого заболевания зачастую достигает двадцати процентов, а в отдельные годы случаются серьезные эпидемии снежной плесени, приводящие к потерям более половины урожая озимых. При этом грибы-возбудители снежной плесени, а также ключевые аспекты их взаимодействия с растениями до сих пор не исследованы. В ходе нашей работы мы провели транскриптомное профилирование растений озимой ржи, инфицированных высоковирулентным штаммом *M. nivale.* В результате анализа профилей дифференциально экспрессирующихся генов мы выявили основные изменения в метаболизме растений при инфекции. Значительная часть дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ) кодировали ферменты метаболизма белков и липидов, в первую очередь, протеазы и липазы. Кроме того, множество ДЭГ принадлежали к функциональной категории «вторичный метаболизм»; среди них уровень экспрессии большого числа генов ферментов биосинтеза терпеноидов и алкалоидов повышался при инфекции. Среди генов, продукты которых обеспечивают биосинтез/передачу сигнала фитогормонов, мы обнаружили дифференциальную экспрессию АБК-регулируемых генов. Результаты транскриптомного профилирования растений ржи были подтверждены с помощью биохимических подходов: содержание терпеноидов и уровни активности липаз и протеаз повышались в инфицированных растениях по сравнению с контрольными, а обработка растений АБК обеспечивала менее выраженное развитие симптомов заболевания после инфицирования *M. nivale*. На основании полученных результатов, а также серии экспериментов по выяснению влияния метаболитов растений на продукцию экстраклеточных ферментов *M. nivale*, потенциально участвующих в растительно-микробных взаимодействиях, в условиях *in vitro*, нами выдвинуты гипотезы о физиологических детерминантах устойчивости/восприимчивости растений к исследуемому патогену. В частности, метаболизм липидов, по-видимому, играет важную роль в процессе взаимодействия между исследуемым патогеном и растением-хозяином. Экстракты растений ржи индуцировали липазную активность *M. nivale*, а у инфицированных растений повышался уровень экспрессии генов, кодирующих липазы. Это означает, что катаболизм липидов обеспечивается в ходе инфекции как ферментами *M. nivale*, так и растений; при этом патоген эксплуатирует ферменты своего хозяина с помощью индукции восприимчивого ответа. Важно отметить, что именно с изменением метаболизмом липидов связывают психротолерантность *M. nivale*. Следовательно, разрушение липидов при инфекции может не только способствовать патогенезу, но и обеспечить *M. nivale* прекурсорами липидов (в том числе жирными кислотами), потребление которых способствует адаптации фитопатогена к холоду.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России (грант 13.2251.21.0122) и государственного задания ФИЦ КНЦ РАН.

Фосфонаты фитопатогена *Pectobacterium atrosepticum*: идентификация, молекулярная структура и регуляция продукции.

Парфирова О.И. [*]***, Петрова О.Е.*** [*]***, Микшина П.В.*** [*]***, Смолобочкин А.В.*** [**]***, Сыромятникова Е.Д.*** [*,***]***, Гоголева Н.Е.*** [*,***]***, Гоголев Ю.В.*** [*,***]***, Горшков В.Ю.*** [*,***]

[*] Казанский институт биохимии и биофизики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук», ул. Лобачевского, 2/31, Казань, Россия;
[**] Институт органической и физическо химии им. А.Е.Арбузова – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук», ул. Академика Арбузова, 8, Казань, Россия;
[***] Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, ул. Кремлевская, 18, Казань, Россия.
parfirovaolga.i@gmail.com

Фитопатоген *Pectobacterium atrosepticum* является широко распространённым возбудителем мягкой гнили растений. За пектобактериями крепко закрепилась репутация гиперпродуцентов ферментов, разрушающих пектиновые вещества растительных клеточных стенок. Однако, несмотря на разрушительный потенциал этих бактерий, взаимодействие пектобактерий с растениями может выражаться не только мягкими гнилями, но и бессимптомными инфекциями, при которых патоген и хозяин мирно сосуществуют. Безусловно, список детерминант патогенности пектобактерий далек от завершения и не ограничен действием одних лишь пектиназ, что формирует одну из ключевых преград для более полного понимания механизмов их взаимодействия с растениями. И важной задачей является поиск молекулярных игроков, определяющих тип инфекции, вызываемой пектобактериями.

С помощью транскриптомного анализа мы выяснили, что одним из критериев агрессивного «поведения» пектобактерий является сверхэкспрессия генов, аннотированных как ферменты биосинтеза фосфонатов – соединений, в которых есть связь «углерод-фосфор». Для ряда природных и синтетических фосфонатов продемонстрированы «цидные» свойства. Ранее было установлено, что фосфонат пантафос фитопатогена *Pantoea ananatis* обладает гербицидными свойствами и повышает вирулентность патогена. Поэтому целью данной работы было установить, способны ли фитопатогенные пектобактерии продуцировать фосфонаты, и могут ли они выступать в качестве факторов вирулентности.

Чтобы проверить, действительно ли пектобактерии продуцируют низкомолекулярные экстраклеточные фосфонаты, были подобраны условия *in vitro*, которые индуцируют экспрессию генов, связанных с фосфонатами, и проведена экстракция предполагаемых фосфонатов из супернатантов культур пектобактерий. Для обнаружения фосфонатов была использована ЯМР-спектроскопия по фосфору. Спектры ЯМР ^{31}P для полученных образцов показали сигналы, характерные для фосфонатов. Мутант с делецией гена *fom1*, кодирующего ключевой ген биосинтеза фосфонатов (фосфоенолпируват мутазу), не продуцировал эти метаболиты; но способность к синтезу фосфонатов восстанавливалась у компенсаторного мутантного штамма, несущего целевой ген *fom1* в составе плазмиды. При помощи масс-спектрометрии было определено, что молекулярная структура фосфоната пектобактерий представлена 4-[2-(диэтоксифосфорил)-1-гидроксиэтил] фенилгидрофосфоната. Было установлено, что синтез исследуемого соединения зависит как от присутствия индукторов растительного происхождения (особенно пектина), так и от функционирования системы кворум патогена. Это может свидетельствовать о принадлежности фосфонатов к факторам вирулентности пектобактерий.

Таким образом, мы впервые детектировали внеклеточные низкомолекулярные фосфонаты у фитопатогенных пектобактерий. В настоящее время мы проводим сравнительный анализ стратегии взаимодействия растений с дикой и Δ*fom1*-мутантной формами *Pectobacterium atrosepticum* и проверяем их вирулентность.

Работа поддержана грантом РНФ №19-14-00194

Влияние микоризации на динамику метаболома корней *Medicago lupulina* на ранних этапах развития

***Пузанский Р.К.*[*], *Шаварда А.Л.*[*], *Кирпичникова А.А.*[**], *Авдеева Г.С.*[**], *Шишова М.Ф.*[**], *Юрков А.П.*[***]**

[*] Ботанический институт имени В. Л. Комарова РАН, ул. проф. Попова, 2П, Санкт-Петербург, Россия;
[**] Санкт-Петербургский государственный университет, Университетская наб., 7/9, Санкт-Петербург, Россия;
[***] Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, шоссе Подбельского, 3, Пушкин-8, г.Санкт-Петербург, Россия.
puzansky@binran.ru

Арбускулярная микориза (АМ) – самый распространенный симбиоз в наземных экосистемах от полярных пустынь до высокогорных регионов. АМ играет крайне важную роль в жизни растений, стимулируя их рост посредством улучшения минерального питания. Растения, в свою очередь, являются продуцентами органических соединений, значительная часть которых потребляется микосимбионтом. В результате такого обмена формируется холобионт – тесно связанная на метаболическом и регуляторном уровнях система. Холобионт формируется в процессе развития растения в результате интерференции программ онтогенеза и микоризации. Для системного освещения хода этого процесса хорошо походят методы метаболомики.

В качестве модельного растения была использована *Medicago lupulina* (люцерна хмелевидная) линия MLS-1, характеризующаяся сильным ответом на микоризацию. В роли микосимбионта выступал эффективный штамм RCAM00320 *Rhizophagus irregularis*. Нами были проанализированы профили метаболитов корней проростков, 14 и 24 суточных микоризованных (АМ+) и немикоризованных (АМ-) растений. Для исследования метаболома мы применили профилирование метаболитов методом ГХ-МС в сочетании с последующим мультивариантным анализом.

Полученные профили включали около 340 соединений. Наиболее обильно были представлены сахара и их производные (52), включая пентозы, гексозы и сложные сахара, сахароспирты и сахарокислоты. Также было идентифицировано 27 аминокислот (включая все протеиногенные), а также дюжину других азотосодержащих соединений. Более двух десятков карбоновых кислот, интермедиатов энергетического метаболизма. Липидный обмен был представлен семью жирными кислотами и их производными и полутора десятками стеринов.

Анализ методами главных компонент (PCA), многомерного шкалирования (MDS) и иерархического кластерного анализа показали, что профили группируются согласно как возрасту, так и статусу микоризации. Оказалось, что проростки выделяются в свою обособленную группу. Это свидетельствует об их метаболическом своеобразии. Интересно, что профили 14 и 24 суточных растений разбивались в первую очередь по статусу микоризации, а затем по возрасту. Таким образом, для метаболизма корней определяющим фактором является микоризация. Этот факт контрастирует с ранее полученными данными о влиянии микоризации на листья люцерны, где стадия развития была ведущим фактором, определяющим метаболом. Такое различие можно объяснить более тесными метаболическим взаимодействием в зоне непосредственного контакта симбионтов.

Следующим этапом работы стал анализ различий АМ+ и АМ- растений 14 и 24 суточного возраста. На 14 сутки по результатам OPLS-DA с микоризацией было связано около 30% дисперсии. Оказалось, микоризация существенно влияет на паттерн содержания аминокислот. При взаимодействии люцерны с грибом ряд аминокислот (например, тирозина, гистидина, лизина, триптофана и др.) характеризовался повышенным накоплением. Напротив, для аспарагина, пролина, фенилаланина, глутамина показано снижение содержания. Кроме того, микоризация отрицательно влияла на содержание карбоксилатов, в том числе интермедиатов цикла Кребса: цитрата, малата, сукцината и фумарата. Важным эффектом микоризации является снижение уровня сахаров, в том числе глюкозы, фруктозы и сахарозы. Влияние микоризации на липидный обмен заключалось в стимуляции накопления некоторых стеринов, в том числе кампестерина, и репрессии аккумуляции жирных кислот.

На 24 сутки доля дисперсии, связанная с микоризацией, возросла до 37%, что можно интерпретировать как результат роста влияния микоризы на метаболизм в процессе её формирования. Картина влияния микоризы на метаболом в целом сохранялась, о чем свидетельствует положительная корреляция (r=0.5) между значениями факторных нагрузок из соответствующих OPLS-DA моделей. Тем не менее, наблюдались и существенные изменения. Во-первых, ослаблялось влияние микоризации на содержание аминокислот. Во-вторых, у 24 суточных растений, в отличие от двухнедельных растений, при микоризации наблюдалось большее накопление моносахаридов, в том числе глюкозы и фруктозы.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ №22-16-00064.

Фенотипическое и генотипическое разнообразие грибов-возбудителей серой снежной плесени рода *Typhula*

Рязанов Е.А., Гоголева О.А.., Гоголева Н.Е., Мещеров А.Р., Осипова Е.В., Маренина Е.А., Гоголев Ю.В., Горшков В.Ю.

Казанский институт биохимии и биофизики - обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук», ул. Лобачевского 2/31, г. Казань, РФ.
eg.ryazanov@gmail.com

Серая или крапчатая снежная плесень – опасное заболевание, поражающее озимые злаковые культуры. Возбудители заболевания – психрофильные фитопатогенные базидиомицеты рода *Typhula*. В отличие от большинства патогенов, грибы рода *Typhula* активны только в зимний период и поражают растения при низких температурах под снежным покровом. Эти фитопатогены приводят к значительной потере урожая озимых зерновых культур. Несмотря на это, грибы рода *Typhula* остаются одними из самых плохо исследованных фитопатогенов. В связи с этим, целью нашего исследования был сбор первой в России коллекции грибов рода *Typhula*, а также фенотипическая и генетическая характеристика изолятов. Для выделения изолятов растения озимой ржи, пшеницы и тритикале, пораженные снежной плесенью, собирали на территории Республики Татарстан. Всего нами было выделено 52 изолята грибов, отнесенных к роду *Typhula*. Важной таксономической характеристикой грибов рода *Typhula* является морфология склероциев –особых покоящихся структур, состоящих из плотно переплетенных гиф гриба. С помощью анализа морфологии склероциев и микроскопии клеток поверхностного слоя склероциев нам удалось идентифицировать и разделить исследуемые изоляты на 2 вида: *Typhula ishikariensis* (36 изолятов) и *Typhula incarnata* (16 изолятов). Для верфикации таксономической принадлежности и оценки генетического разнообразия выделенных изолятов нами был проведен анализ таксономически-информативного участка гена фактора элонгации 1 альфа. В результате филогенетического анализа последовательностей было выявлено 8 вариантов последовательностей для *Typhula ishikariensis* и 10 вариантов для *Typhula incarnata.* Внутривидовая вариабельность последовательностей *Typhula ishikariensis* была более выражена, чем у *Typhula incarnata*. Это соотносится с литературными данными о том, что грибы вида *Typhula ishikariensis* являются, по всей видимости, ещё не разделенным комплексом видов. Для характеристики вирулентности выделенных изолятов были использованы растения трех озимых культур: рожь (*Secale cereale*), пшеница (*Triticum aestivum*) и тритикале (*Triticosecale*) в двух физиологических состояниях — закалённые и без закалки. На основе оценки площади поражения листовой пластинки инфицированных растений изоляты были распределены на несколько групп по степени вирулентности. Мы выявили, что степень поражения растения зависит не только от агрессивности изолята, но и от физиологического состояния колонизируемого патогеном растения (закаленное/без закалки). Причем изоляты *Typhula incarnata* интенсивнее поражали закаленные растения, а изоляты *Typhula ishikariensis* предпочитали незакаленные растения. Таким образом, нами было выявлено, что несмотря на близкое родство между двумя видами, они обладают неодинаковым генетическим разнообразием, а также имеют разную стратегию колонизации растений.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России (грант 13.2251.21.0122) и государственного задания ФИЦ КНЦ РАН.

Лекарственные растения Калининградской области как потенциальные геропротекторные средства

Соболева А.В.*[*,**,], *Орлова А.А.*[*,****], *Алхаже К.*[***,****], *Мешалкина Д.А.*[***,*******], *Силинская С.А.*[***], *Билова Т.Е.*[*,****], *Повыдыш М.Н.*[*****], *Бабич О.О.*[******], *Сухих С.А.*[******], *Фролов А.А.*[*,**,***]**

[*] Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Лаборатория клеточной регуляции, Ботаническая ул., д. 36, Москва, Россия;
[**] Институт биохимии растений им. Лейбница, Департамент Биоорганической Химии, Вайнберг 3,Халле, Германия;
[***] Санкт-Петербургский государственный университет, Кафедра биохимии, Средний проспект В.О., д. 41, Санкт-Петербург, Россия;
[****] Санкт-Петербургский государственный университет, Кафедра физиологии и биохимии растений, Университетская наб., д. 7/9, Санкт-Петербург, Россия;
[*****] ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России, кафедра биохимии, ул. Профессора Попова, д.14, лит. А., Санкт-Петербург, Россия;
[******]ФГАОУ ВО «БФУ им. И. Канта», ул. А. Невского, д. 14, Калининград, Россия;
[*******]Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН, пр. Тореза, 44, Санкт-Петербург, Россия.
anastasia.lebedkova@spcpu.ru

На сегодняшний день одной из глобальных проблем человечества является старение популяции. Прогнозируется, что к 2050 году доля пожилого населения увеличится втрое, что в свою очередь будет сопровождаться увеличением смертности от болезней старческого возраста – заболеваний сердечно-сосудистой системы, злокачественных новообразований, нейродегенеративных процессов, снижения иммунитета, сахарного диабета. В связи с этим разработка средств поддержания организма при старении является несомненно актуальной задачей. Использование комплексов природных соединений с доказанной активностью является перспективным направлением исследований в связи с их высоким разнообразием и низким психологическим барьером пациентов. Именно поэтому, целью нашего исследования являлось создание концепции применения комбинированных геропротекторных препаратов на основе набора природных соединений растительного происхождения, обладающих специфической (антиоксидантной, антигликирующей, антинейродегенеративной, противовоспалительной) активностью.

Были получены метанольные, этилацетатные, водные/водно-этанольные экстракты 13 видов лекарственных растений Калининградской области– репешка обыкновенного *(Agrimonia eupatoria* L.), полыни горькой (*Artemisia absinthium)*, лапчатки серебристой (*Potentilla argentea* L.*)*, ольхи серой (*Alnus incana* (L.) Moench) таволги вязолистной (*Filipendula ulmaria* L. Maxim), омелы белой (*Viscum album* L.), сабельника болотного (*Comarum palustre*L.), дремлика лесного (*Epipactis helleborine* (L.) Crantz*)*, очитка ложного (*Sedum spurium* M.Bieb.), полыни обыкновенной (*Artemisia vulgaris* L.), золотарника обыкновенного (*Solidágo virgáurea* L.*)*, валерианы лекарственной (*Valeriana officinalis* L.) и яснотки белой (*Lamium album* L.). Был проведен скрининг биологической активности полученных экстрактов. При использовании методов FRAP, ABTS и DPPH (оценка способности к восстановлению трёхвалентного железа, улавливанию свободных радикалов 2-азинобис(3-этилбензотиазолин-6-сульфоновой кислоты и 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила соответственно) наибольшая антиоксидантная активность была показана для метанольных экстрактов ольхи серой, таволги вязолистной и вереска обыкновенного. Оценка клеточного воспалительного ответа, основанная на анализе экспрессии генов провоспалительных цитокинов IL-1β и TNF-α методом количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) показала наибольшую активность экстрактов *A. incana, C. vulgaris* и *S. virgaurea*. Наибольшая антигликирующая активность показана для экстрактов *A. eupatória, P. argentea, A. incána* и *C. vulgaris,* а экстракты *F. ulmaria, A. vulgaris, S. spirium, C. palustrum* и *A. incana* продемонстрировали наиболее выраженные антинейродегенеративные свойства в модели токсичности амилоидного пептида $A\beta_{25-35}$ для дифференцированных клеток нейробластомы человека SH-SY5Y.

При проведении фитохимического анализа было решено сделать акцент на двух наиболее активных растительных экстрактах, полученных из растений *Alnus incana* и *Calluna vulgaris.* Предварительный фитохимический анализ показал, что основным компонентом экстрактов соплодий ольхи является эллаговая кислота. Кроме того, во всех экстрактах была обнаружена галловая кислота, а в этилацетатном и метанольном экстрактах выявлены следовые количества 3,4-дигидроксибензойной кислоты. Также в этилацетатном экстракте ольхи аннотированы неидентифицированные соединения, имеющие спектры, близкие к эллаговой кислоте, исходя из чего сделано предположение о содержании широкого спектра производных эллаговой кислоты. Водно-этанольный и метанольные экстракты вереска показали содержание рекордных количеств хлорогеновой кислоты, а также значительное количество гиперозида, апигенина-7-*O*-глюкозида, кверцетина-3*D*-глюкозида, катехина, астрагалина и кофейной кислоты. Основными фенольными компонентами этилацетатного экстракта вереска были гиперозид, рутин, хлорогеновая кислота, апигенин и астрагалин, но их содержание было значительно ниже, чем в водно-этанольном и метанольном экстрактах.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в соответствии с договором № 075-15-2022-322 от 22.04.2022 о предоставлении гранта в форме субсидий из федерального бюджета Российской Федерации. Грант был предоставлен на государственную поддержку создания и развития Научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего"

Разработка технологии применения микробиологических препаратов для проведения процедуры фиторемедиации нефтезагрязненных почв

***Сотникова Ю.М.*[*], *Григориади А.С.*[*], *Федяев В.В.*[*,**], *Четвериков С.П.*[**], *Зобкова Н.В.*[***], *Фархутдинов Р.Г.*[*]

[*] Башкирский государственный университет, ул. Заки Валиди, 32, Уфа, Россия;
[**] Уфимский институт биологии УФИЦ РАН, Октября пр., 69, Уфа, Россия;
[***]Оренбургский государственный медицинский университет МЗ РФ, Советская ул., 6, Оренбург, Россия.
frg2@mail.ru

Ранее проведенные нами исследования показали, что биопрепарат «Ленойл», который используется для деградации углеводородов нефти, при его внесении в нефтезагрязненную почву в определенной степени стимулирует ростовые процессы у растений ржи. Процесс стимуляции, в первую очередь, связан с уменьшением токсического действия нефтепродуктов в связи с их деградацией микроорганизмами биопрепарата «Ленойл». Стимулирующее действие самого препарата на растения, растущих на почвах, не содержащей нефтепродукты, не столь невелико. Последовательное внесение в нефтезагрязненную почву комплексов микробных препаратов (деструктор углеводородов «Ленойл» + стимулятор роста растений «Азолен») у ржи посевной ингибировало ростовые процессы растений. Это, вероятно, могло быть связано с определенным антагонизмом микроорганизмов биопрепаратов или между биопрепаратами и естественной микрофлорой серой лесной почвы. Рост надземной части растений и накопление их биомассы являются наиболее важными показателями при проведении фиторемедиационных мероприятий.

Рост растений ржи на почве с нефтью привел к ингибированию ростовых процессов по сравнению с растениями контрольного варианта, выращенными на почве без нефти. Внесение в почву биопрепаратов «Ле-нойл» привело к снижению негативного эффекта нефти на ростовые процессы. Предпосевная обработка семян и 3х кратная (через 7 суток) внекорневая обработка растений биопрепаратом «Азолен», совместно с внесением в почву с биопрепаратом «Ленойл», привело к активации ростовых процессов. Значения ростовых показателей практически не отличались от контрольного варианта.

Применение относительно недавно разработанного Уфимским Институтом биологии биопрепарата «Агробиолог», по такой же схеме выращивания и применения биопрепаратов, также показало хороший ростактивирующий эффект для растений ржи выращенных на нефтезагрязненной почве. Морфометрические показатели растений ржи при применении комбинации «Ленойл+Агробиолог» достоверно не отличались от варианта «Ленойл+Азолен». Это говорит микробно-растительном взаимодействии микроорганизмов препаратов «Агробиолог», «Азолен» и растений ржи.

На основании литературных данных и полученных нами экспериментальных данных, для проведения комплексных фиторемедиционных мероприятий с использованием микробных препаратов наиболее эффективной является следующая схема рекультивации нефтезагрязненных земель:

1) Проведение агротехнических мероприятий, направленных на улучшение структуры почвы (рыхление) для улучшения дыхания корней растений и аэробных углеводородокисляющих микроорганизмов, более равномерного распределения нефтепродуктов в почвенном горизонте и извлечения растений для их последующей утилизации (период не менее 30 суток, в летнее время).
2) Внесение биопрепарата «Ленойл» в дозе 100 кг на 1 га для биодеградации нефтепродуктов до концентрации не более 4% в почве (при периодическом увлажнении и рыхлении в течение 30 суток.
3) Предпосевная обработка семян ржи биопрепаратом «Азолен» или «Агробиолог» из расчета 1 л на 1 т семян. При достаточной влажности почвы семена ржи (на средних по гранулометрическому составу почвах) заделывают на 3–4 см, сплошным способом. Рожь возделывается как сидератная культура.
4) Внекорневую обработку растений ржи проводят в активной фазе роста трижды с интервалом 7 дней (7, 14, 21 сутки от всходов) биопрепаратом «Азолен» или «Агробиолог» в дозе 1 л/1 га.

Таким образом, сочетание двух видов обработок (корневой (Ленойл) и внекорневой («Азолен» или «Агробиолог») микробиологическими препаратами позволило растениям ржи активизировать ростовые процессы в условиях роста на нефтезагрязненных почвах до морфометрических значений близких с показателями растений контрольного варианта.

Структура и функции белка Svx – фактора вирулентности *Pectobacterium atrosepticum.*

Тендюк Н.В.*[*], Горшков В.Ю.[*], Гоголева Н.Е.[*], Коннова Т.А.[*], Осипова Е.В.[*], Макшакова О.Н.* Петрова О.Е.[*], Мухаметзянов Т.А.[**], Гоголев Ю.В.[*]

[*] Казанский институт биохимии и биофизики - обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук», ул. Лобачевского 2/31, г. Казань, РФ;
[**] ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», ул. Кремлевская 18, г. Казань, РФ.
natasha.tendjuk@rambler.ru

Пектобактерий принято относить к опасным вредителям, вызывающим острые патологии у культурных растений. Ключевыми факторами их вирулентности считаются ферменты, разрушающие углеводные полимеры растительной клеточной стенки. Однако для пектобактерий характерен еще ряд потенциальных детерминант патогенности, механизмы действия которых остаются неизвестными. К предполагаемым факторам вирулентности пектобактерий относится белок Svx *Pectobacterium atrosepticum*, функции которого в патогенезе, индуцируемом данными микроорганизмами, не выяснены. Для того, чтобы понять, какова роль белка Svx в развитии инфекционного процесса, нами был проведен биоинформатический анализ его аминокислотной последовательности, а также получены очищенные препараты рекомбинантного белка и его мутантных форм для экспериментального подтверждения гипотез, выдвинутых на основе данных полученных *in silico*. В нашей работе в ходе биоинформатического анализа аминокислотной последовательности данного белка было выявлено, что Svx-подобные белки характерны не только для фитопатогенов, но и для свободно живущих, а так же мутуалистических бактерий. На филогенетическом дереве, построенном по аминокислотным последовательностям, Svx-подобные белки фитопатогенных микроорганизмов образуют отдельную кладу, что не соответствует принятой филогении данных организмов и может свидетельствовать о направленной эволюции данных белков у фитопатогенов. В ходе анализа аминокислотной последовательности с помощью серверов NCBI Concerved Domain Search, Phyre2, HMMER и I-TASSER у белка Svx *P. atrosepticum* было предсказано два функциональных домена – протеазного и ацилтрансфераз-подобного. Активный сайт предполагаемого протеазного домена образован цинк-связывающим мотивом HEXXH(8,28)E, характерным для цинк-зависимых металлопротеаз. Для экспериментального подтверждения наличия у белка Svx протеазной активности, обусловленной наличием цинк-связывающего мотива в активном центре протеазного домена, был получен очищенный препарат рекомбинантного белка Svx, а также две его мутантные формы по остаткам глутаминовых кислот, расположенных в предполагаемом каталитическом центре E141A и E167A. Очистку белков проводили методом аффинной хроматографии на сорбенте Strep-tactin superflow. У полученного препарата рекомбинантного белка Svx была выявлена протеазная активность. Ферментативная активность мутантных форм E141A и E167A была снижена относительно активности белка дикого типа на 76% и 60% соответственно, что свидетельствует о том, что белок Svx действительно является цинк-зависимой металлопротеазой. Для того, чтобы предсказать потенциальные субстраты белка Svx *P. atrosepticum*, с помощью алгоритма AlphaFold 2 была построена модель его третичной структуры. При сравнении полученной модели белка Svx со структурами из базы данных PDB было выявлено сходство в строении его протеазного домена с протеазным доменом O-гликопептидазы ZmpB *Clostridium perfringens,* что может свидетельствовать о наличии у белка Svx *P. atrosepticum* возможной O-гликопептидазной активности. Поскольку белок Svx секретируется пектобактериями в апопласт, в качестве потенциальных лигандов были выбраны фрагменты гликозилированных белков растительной клеточной стенки. По результатам докинга было выдвинуто предположение, что возможными субстратами белка Svx являются экстенсины. В настоящее время продолжаются работы по выяснению влияния Svx белка на иммунные ответы растений для изучения роли данного белка в патогенезе, индуцируемом пектобактериями.

Работа проведена в рамках гранта РНФ (19-14-00194) и госзадания.

Гидропероксидбициклазы – новые ферменты биосинтеза оксилипинов

Топоркова Я.Ю., Смирнова Е.О., Ланцова Н.В., Мухтарова Л.Ш., Гречкин А.Н.

Казанский институт биохимии и биофизики - обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук», ул. Лобачевского 2/31, г. Казань, Россия
toporkova@kibb.knc.ru

Окисление полиненасыщенных жирных кислот является источником важнейших биорегуляторов – оксилипинов, играющих важную роль в регуляторных процессах, а также ответных реакциях на изменение условий окружающей среды. Например, у млекопитающих эйкозаноиды, продукты окислительных превращений жирных кислот эйкозанового ряда, контролируют основные физиологические функции: работу органов пищеварения, сердечно-сосудистой и респираторной систем, воспроизводства, в воспалительных процессах, анафилаксии, системах иммунного ответа и др. У растений оксилипины участвуют в сигнальных процессах, в коммуникации, в непосредственной защите от патогенных организмов и листогрызущих животных и т.д.

Основным источником оксилипинов у растений является липоксигеназный каскад, начинающийся с образования гидроперекисей жирных кислот при участии липоксигеназ. Дальнейший метаболизм гидроперекисей контролируется рядом ферментов, в том числе представителями семейства CYP74, неклассическими цитохромами P450, которые включают алленоксидсинтазы, гидропероксидлиазы, дивинилэфирсинтазы и эпоксиалкогольсинтазы, а также ферменты с двойной и даже тройной активностью. В последнее время ферменты, сходные с представителями семейства CYP74, а также оксилипины, сходные по структуре с продуктами каталитического действия ферментов CYP74, выявляются у таксономически отдаленных организмов – протеобактерий, животных, бурых и красных водорослей. Выявленные ферменты по требованиям номенклатуры нельзя отнести к семейству CYP74, поэтому было введено понятие клана CYP74, объединяющее ферменты семейства CYP74, а также других семейств, проявляющие сходство с этими ферментами по структурным особенностям, механизмам каталитического действия, а также по результатам филогенетических исследований.

Оксилипины включают, среди прочего, различные биологически активные циклопентановые производные жирных кислот, в том числе простагландины и другие простаноиды у млекопитающих, а также жасмонаты и родственные соединения в растениях. В то же время существуют циклопентановые жирные кислоты, механизм биосинтеза которых остается неизвестным. Это, например, оксилипины красных и бурых водорослей, такие как гибридолактоны, эклониалактоны, эгрегиалактоны, циматеровые эфиры, циматеролактон и циматеролы, а также родственные продукты. История изучения этих соединений началась уже 40 лет назад, тем не менее пути их биосинтеза не изучены, особенно учитывая их разнообразие. Практически каждый тип этих соединений характерен для определенного рода водорослей и называется по названию водоросли – эгрегиалактоны, циматеролы и т.п.

Недавний прогресс в геномном секвенировании выявил новое семейство CYP5164 неклассических P450, родственных белкам клана CYP74. Первый обнаруженный ген CYP5164B1 бурой водоросли *Ectocarpus siliculosus* был клонирован нами в 2017 году, и рекомбинантный белок был идентифицирован как эпоксиалкогольсинтаза. В то время это был единственный охарактеризованный фермент этого семейства. Механизм каталитического действия этого фермента изучали с помощью экспериментов с использованием меченого ^{18}O и определили фермент как изомеразу (также как гидропероксидлиазы и все в последующем изученные эпоксиалкогольсинтазы). И его отнесли к клану CYP74 на основании филогенетического родства, а также сходства структурных особенностей и механизмов каталитического действия. Прогресс геномных исследований не стоит на месте. К настоящему моменту гены этого же семейства выявлены в геномах разных бурых водорослей. Кроме того, два сходных гена были обнаружены у *Plasmodiophora brassicae*, возбудителя килы капусты. Два белка (CYP5164A3 *E. siliculosus* и CYP50918A1 *P. brassicae*) были охарактеризованы. Они катализируют образование бициклических циклопентановых производных жирных кислот, названных плазмодиофоролами и эктокарпинами, родственных гибридолактонам и т.п. Ферменты были определены как гидропероксидбициклазы – новые ферменты биосинтеза оксилипинов.

Биоинформационные и филогенетические исследования выполнены в рамках выполнения государственного задания ФИЦ КазНЦ РАН. Работа по исследованию каталитических свойств ферментов выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 20-14-00338).

Молекулярные и клеточные ответы симбиотических клубеньков гороха посевного (*Pisum sativum* L.) при воздействии повышенной температуры

Цыганов В.Е., Серова Т.А., Китаева А.Б., Горшков А.П., Селивёрстова Е.В., Кусакин П.Г., Цыганова А.В.

Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, ш. Подбельского, 3, Пушкин 8, Санкт-Петербург, Россия.
vetsyganov@arriam.ru

С использованием лабораторной линии SGE был выявлен уникальный тип старения симбиотического клубенька гороха (*Pisum sativum* L.) при воздействии повышенной температуры (28 °С), проявляющийся в индукции деградации тканей апикальной части, что отличается от ранее описанной индукции старения симбиотического клубенька в базальной его части как при естественном, так и при индуцированном старении.

Было показано, что изменение окраски апикальной части клубенька от розовой на зеленую при тепловом воздействии сопровождается изменениям на гистологическом уровне. Так уже через 3 суток наблюдалась накопление амилопластов в инфицированных клетках в зоне инфекции, что является признаком неэффективности симбиоза, а также индукция деградации клеток. Через 9 суток воздействия повышенной температуры наблюдалась глубокая деградация клеток клубенька. Повышенная температура, действующая на протяжении 5 суток, приводила к выраженным ультраструктурным изменениям инфицированных клеток клубеньков гороха, включая дегенеративные изменения ядер и симбиосом.

На основании предыдущих исследований был выбран ряд генов и проведен анализ их экспрессии для изучения старения, индуцированного повышенной температурой, в клубеньках гороха. Было показано, что повышенная температура приводит к усилению экспрессии генов, кодирующих цистеиновую протеазу 15a (*PsCyp15a*), P45 субъединицу AAA-АТФазы 26S протеасомы (*Ps26S AAA-ATPase*), фактор транскрипции bZIP (*PsATB2*), транскрипционный фактор теплового стресса B-3 (*PsHS TF B-3*), белки теплового шока митохондриальной (*PsHSP22*) и цитоплазматической (*PsHSP17.9*) локализации, генов 1-аминоциклопропан-1-карбоксилат синтетазы (*PsACS2*) и оксидазы (*PsACO1*), кодирующих ферменты синтеза этилена, генов 9-цис-эпоксикаротеноид диоксигеназы (*PsNCED2*) и альдегид оксидазы 3 (*PsAO3*), участвующих в синтезе абсцизовой кислоты, гена липоксигеназы 1 (*PsLoxN1*), участвующей в синтезе жасмонатов, гена белка-маркера реакции гиперчувствительности (*PsHSR203J*), гена деактивации (*PsGA2ox1*) биоактивной формы гиббереллинов, являющихся негативными регуляторами старения, генов биосинтеза глутатиона γ-глутамилцистеин синтетазы (*PsGSH1*) и глутатион синтетазы (*PsGSHS*). При этом было показано, что повышенная температура снижает уровень экспрессии гена фермента биосинтеза гиббереллинов (*PsGA20ox1*).

В настоящее время проводится транскриптомный анализ влияния повышенной температуры на дифференциальную экспрессию генов в клубеньках гороха линии SGE.

Для исследования физиологической обратимости морфологических изменений клубеньков после температурной обработки, был осуществлен перенос растений, подвергавшихся воздействию повышенной температуры (28 °С) в течение 3-х и 5-ти суток, обратно в климатическую камеру с температурой 21 °С. Выращивание перенесенных растений при 21 °С проводилось в течение 7 суток. В случае снятия воздействия повышенной температуры, оказываемого на протяжении 3-х суток, наблюдалось розовое окрашивание апикальной части клубеньков с формированием четко ограниченной коричнево-зеленой зоны в области зоны ранней азотфиксации. Анализ гистологии таких клубеньков показал формирование зоны старения в апикальной части клубенька, выше которой была отмечена регенерация азотфиксирующих клеток. Т. е. наблюдалась частичная обратимость морфологических изменений. В то же время экспозиция растений в течение 5 суток приводила к уже необратимым изменениям клубеньков.

Таким образом, в ходе проведенных исследований было продемонстрировано, что повышенная температура индуцирует новый тип старения симбиотического клубенька в его апикальной части. При этом для необратимости процесса старения клубенька достаточно экспозиции растений в условиях повышенной температуры в течение 5 суток.

Исследования финансово поддержаны Российским научным фондом (грант 21-16-00117).

Симбиотический интерфейс в развитии клубеньков гороха (*Pisum sativum* L.)

Цыганова А.В., Горшков А.П., Селивёрстова Е.В., Цыганов В.Е.

Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, ш. Подбельского, 3, Пушкин 8, Санкт-Петербург, Россия.
avtsyganova@arriam.ru

Эффективность обмена веществ между бобовыми растениями и ризобиями достигается благодаря развитию обширной контактной поверхности между хозяином и микросимбионтом – симбиотического интерфейса. Существует множество различных компонентов симбиотического интерфейса, и они играют важную роль в обеспечении позиционной информации во время ризобиальной инфекции. В процессе развития клубеньков последовательные изменения в морфологии клеток во время колонизации ризобиями соответствуют последовательным изменениям в молекулярной архитектуре апопласта, клеточной стенки и связанных с ней поверхностных структур.

Симбиотическое взаимодействие бобовых и ризобий включает новые аспекты клеточного морфогенеза, в частности, формирование инфекционной нити и симбиосом. При изучении симбиотического интерфейса большое внимание было уделено формированию, росту и развитию инфекционной нити – структуры, которая представляет собой апопластную фазу существования ризобий внутри клубенька. Так, инфекционная нить представляет собой растущую внутрь трубку, в которой полярный (апикальный) рост топологически инвертирован. Инициирование и рост инфекционной нити являются следствием обмена сигналами с ризобиями и измененной транскрипционной активности в ядре клетки-хозяина. Рост инфекционной нити происходит из-за направленного отложения материала клеточной стенки и плазматической мембраны на растущем кончике, сопровождаемый синтезом и направленной секрецией внеклеточного матриксного материала в просвет инфекционной нити и делениями бактерий внутри. Полярный рост инфекционной нити требует высокой степени координации между многими клеточными и внеклеточными процессами, включая динамику ионов Ca^{2+}, апопластные активные формы кислорода, цитоскелет и везикулярный транспорт.

Проведенные нами исследования генотипов дикого типа и симбиотических мутантов позволили выявить онтогенетические изменения симбиотического интерфейса на примере *Pisum sativum* L. Клубеньки покрыты корой, клеточные стенки наружных клеток которой (эпидерма) содержат ксилогалактуронан. Далее располагается эндодерма, которая служит кислородным барьером в клубеньках для сохранения активности нитрогеназы, чувствительной к кислороду. Клеточные стенки эндодермальных клеток содержат арабиногалактановый белок (АГБ) и суберин, которые, однако, не распространяются на область меристемы.

Клеточные стенки подвергаются изменениям в процессе инфицирования растительных клеток. Так, на начальных этапах инфицирования в клеточных стенках появляются фукизилированные ксилоглюканы (КГ), перекрестно связанные ионами Ca^{2+} молекулы гомогалактуронана (ГГ) и молекулы рамногалактуронана I (РГ-I) с блочным характером ветвления, что может быть связано с усилением защитных реакций и ригидификацией клеточных стенок. С дальнейшим развитием инфекции фукозилированный КГ исчезает из клеточных стенок, но увеличивается содержание ГГ с низкой степенью метилирования, которое достигает максимума в стареющих инфицированных клетках с дегенерирующими симбиосомами. Как состав стенок, так и матрикса инфекционных нитей практически не меняются в зрелом клубеньке вне зависимости от гистологической зоны: в матриксе определяются арабиногалактанпротеин-экстензины и экстензины, в стенках – ГГ с разной степенью метилирования, а в молекулах РГ-I арабинановые боковые цепи сменяются галактановыми. При выходе бактерий из инфекционных нитей в ювенильных симбиосомах распространены арабинаны, при созревании симбиосом и дифференцировке бактероидов арабинановые эпитопы исчезают, но увеличивается количество АГБ с гликозилфосфатидилинозитоловым якорем, которые можно считать маркером зрелости симбиосомных мембран.

Таким образом, в ходе проведенных исследований было продемонстрировано, что процесс интернализации ризобий зависит от модификации симбиотического интерфейса и подавления защитных реакций хозяина, которые в противном случае остановили бы развитие бактериальной инфекции — во внеклеточном матриксе, вызывая прерывание инфекционных нитей или в цитоплазматической фазе, вызывая раннее старение симбиосом.

Исследования финансово поддержаны Российским научным фондом (грант 21-16-00117).

Биотехнология растений и микроорганизмов

Действие прекурсоров на накопление и состав фенольных соединений в *in vitro* культурах чайного растения

Аксенова М.А.*[*], Нечаева Т.Л.[*], Николаева Т.Н.[*], Зайцев Г.А.[**], Загоскина Н.В.[*]

[*] Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Ботаническая ул., 35, Москва, Россия;
[**] ФГБУН Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия "МАГАРАЧ" РАН, ул. Кирова, 31, Ялта, Россия.
akse.masha@yandex.ru

Современные фитобиотехнологии, в том числе культивируемые *in vitro* клетки и ткани растений, относятся к перспективным направлениям физиологии растений. Изменение экологических условий на нашей планете приводит не только к снижению продуктивности растений, но и исчезновению некоторых их представителей. В этом случае культуры растительных клеток и тканей позволяют сохранить биоразнообразие растительного мира, а также получать в условиях *in vitro* ценные метаболитов. К их числу относятся фенольные соединения (ФС) - чрезвычайно разнообразные по структуре, свойствам и биологической активности вещества. Они находит все более широкое применение в различных отраслях народного хозяйства – пищевой, фармацевтической и косметологической промышленности, а также в сельском хозяйстве в качестве регуляторов роста растений. В значительной степени это обусловлено антиоксидантной активностью ФС, что имеет важное значение для поддержания редокс-статуса клеток растений.

К числу уникальных растений относится чай (*Camellia sinensis* L.), характерной особенностью которого является направленность на биосинтез различных ФС, в том числе флаванов (ФЛ) – веществ с высокой Р-витаминной укрепляющей активностью. Ранее нами было показано, что полученные из его молодых побегов культуры *in vitro* сохраняют способность к их образованию, хотя и на более низком уровне по сравнению с исходными эксплантами. Одним из подходов для повышения продуктивности культур может быть использования прекурсоров биосинтеза этих вторичных метаболитов.

Целью исследования было изучение влияния прекурсоров, «затрагивающих» различные этапы биосинтеза ФС, а именно *L*-фенилаланина (ФА), *транс*-коричной кислота (КК) и нарингенина (НГ), на содержание и состав полифенолов в каллусных культурах чайного растения.

Каллусные культуры *Camellia sinensis* L. выращивали на питательной среде Хеллера, содержащей глюкозу (25 г/л) и 2,4-Д (5 мг/л) при 25°С в темноте. При постановке опытов их переносили в жидкую питательную среду с добавлением ФА (3 х 10^{-3}М), КК (1 х 10^{-3}М) или НГ (0.5 х 10^{-3}М). В качестве контроля использовали основную питательную среду. Исследования проводили на 7-ой день культивирования.

ФС извлекали из растительного материала 96% этанолом при 45°С в течение 45 мин. После центрифугирования гомогената (16000 об./мин, 20 мин), надосадочную жидкость отделяли и использовали для спектрофотометрического определения содержания суммы ФС (реактив Фолина-Дениса, 725 нм) и содержания ФЛ (ванилиновый реактив, 500 нм). Содержание ФС и ФЛ выражали в мг-экв. эпикатехина/г сухой массы.

Для изучения состава ФС этанольных экстрактов каллусных культур чая использовали методы тонкослойной (ТСХ) и высокоэффективной жидкостной (ВЭЖХ) хроматографии. ТСХ проводили на пластинках целлюлозы («Merck», Германия), используя в качестве растворителя смесь: *н*-бутанол-уксусная кислота-вода (4:1:5, верхняя фаза). Идентификацию ФС проводили классическими методами (УФ-анализ, качественные реакции). Для ВЭЖХ была использована система Agilent Technologies (модель 1100): хроматограф укомплектован проточным вакуумным дегазатором G1379A, 4-х канальным насосом градиента низкого давления G13111A, автоматическим инжектором G1313A, термостатом колонок G13116A, диодноматричным детектором G1316A и флуоресцентным детектором G1315B. Для разделения ФС применяли хроматографическую колонку «ZORBAX» SB-C18 (2,1 × 150 мм), заполненную силикагелем с привитой октадецилсилильной фазой зернением 3,5 мкм. Состав элюента: раствор А – метанол, раствор В – 0,6%-ный водный раствор трифторуксусной кислоты. Хроматографирование проводили в градиентном режиме. Состав элюента изменялся по следующей схеме (по содержанию компонента В): 0 мин – 8%; 0-8 мин – 8-38%; 8-24 мин – 38-100%; 24-30 мин – 100%. Скорость потока элюента – 0,25 мл/мин. Объем вводимой пробы – 1 мкл. Хроматограммы регистрировали при 280 нм.

Определение суммарного содержания ФС и содержания ФЛ показало повышение их накопления в каллусных культурах чая, подвергнутых действию всех исследованных прекурсоров, по сравнению с контрольным вариантом. В большей степени эти изменения были выражены в присутствии ФА и НГ в среде культивирования. При этом составе фенольных метаболитов контрольного и опытных вариантов был практически одинаков, хотя количество отдельных их представителей незначительно изменялось.

Следовательно, воздействие прекурсоров биосинтеза ФС (ФА, КК, НГ) на каллусные культуры чайного растения приводило к активации накопления в них полифенолов, не вызывая изменений в их составе.

Marchantia polymorpha L, как продуцент антиоксидантов и молекул с нейротехнологическим потенциалом

Белышенко А.Ю., Моргунова М.М., Дмитриева М.Е., Переляева Е.В., Шелковникова В.Н., Аксёнов-Грибанов Д.В.

ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет, Карла Маркса ул.,1, Иркутск, Россия.
al.belyshenko@gmail.com

Лекарственные растения широко используются в качестве альтернативных терапевтических средств для профилактики или вспомогательной терапии различных заболеваний. Представители моховидных растений могут быть перспективными источниками новых биологически активных соединений, о чем свидетельствует низкая степень изученности состава синтезируемых природных соединений. Известно, что немногочисленные из описанных вторичных метаболитов моховидных проявляют различную биологическую активность, в т.ч. противомикробную, противогрибковую, противоопухолевую, антиоксидантную, противовоспалительную и др. Однако, ввиду способности данных растений аккумулировать в себе токсиканты и ионы тяжелых металлов, дикорастущие моховидные растения практически не применяются в терапевтических и профилактических целях. Целью данного исследования являлась качественная оценка содержания природных соединений с нейротехнологическим потенциалом - биогенных аминов в образцах мхов, как собранных в природе, так и выращенных в лабораторных условиях.

Исследования проведены на образцах эксплантов мхов *Marchantia polymorpha L.* (1753). Эксплант *M. polymorpha* был выращен методом жидкостной культивации в стерильной минеральной среде Тамия (10%) на орбитальном шейкере при интенсивности вращения 140 об/мин. Время культивации составило 1 месяц при температуре 22-24 °С с искусственным светодиодным освещением (60-80 Лк.) и фотопериодом 12/12ч. Из эксплантов собранных, в природной среде, а также из образца мха, культивированного в жидкой питательной среде, проводили экстракцию вторичных метаболитов. Идентификацию нейроактивных аминов проводили методом ВЭЖХ-МС в режиме мониторинга множественных реакций на базе хромато-масс-спектрометрического комплекса Agilent Infiniti II с масс-спектрометрическим детектором QQQ 6470B. В образцах экстрактов мхов оценивали наличие таких биогенных аминов, как дофамин, гистамин, серотонин, триптамин, тирамин.

Анализ хроматограмм показал, что гистамин, серотонин, триптамин, тирамин присутствуют в образцах мхов *M. polymorpha*, собранных как в природе, так и выращенных в условиях жидкостного культивирования. Дофамин, напротив, был обнаружен только в образцах мха *M. polymorpha*, собранных в природе, и достоверно идентифицирован по двум дочерним ионам (91/137 m/z).

В здоровье человека биоактивные амины играют важную и ключевую роль в качестве нейротрансмиттеров и участвуют в реализации таких биологических функций, как синапсическая передача, контроль артериального давления и температуры тела, а также рост и дифференцировка клеток.

В ходе настоящего исследования впервые показана способность моховидных растений к биосинтезу биогенных аминов.

Исследование проведено при финансовой поддержке проекта Минобрнауки РФ в рамках создания лабораторий под руководством молодых ученых при научно – образовательных центрах (проект 075-03-2021-141/4, НОЦ Байкал), Гранта Президента РФ МК-1245.2021.1.4. и Грантов Иркутского государственного университета, направленных на поддержку молодых ученых.

Суспензионные клетки голубики щитковой *Vaccinium corymbosum* L. – перспективный источник ценных фенольных соединений

Брилкина А.А.*, *Ветрова Я.А.*, *Рыбин Д.А.*, *Ларина М.В.*, *Исмаилова А.А.*, *Агеева М.Н.*, *Березина Е.В.

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, пр. Гагарина, 23, Нижний Новгород, Россия.
annbril@mail.ru

Голубика щитковая (*Vaccinium corymbosum* L.), как и другие представители семейства Вересковые, характеризуется высоким уровнем фенольных соединений. Ягоды голубики богаты фенольными кислотами и флавоноидами (антоцианами, флавонолами, катехинами), листья – простыми фенолами, гидроксикоричными кислотами, флавоноидами (флавонолами, катехинами) и проантоцианидинами. Среди фенольных соединений голубики важное хозяйственное значение имеют флавоноиды и проантоцианидины, которые обладают высокой антиоксидантной активностью и поэтому входят в состав разнообразных косметических и лекарственных средств, биологически активных добавок к пище, функциональных продуктов питания. При этом получение фенольных соединений ограничено сезонностью развития растений, в связи с чем в настоящее время активно разрабатываются биотехнологические методы для круглогодичного доступа к ценному растительному сырью, в т.ч. методы культивирования суспензионных клеток. В настоящей работе проведен анализ влияния различных факторов культивирования суспензионных клеток голубики щитковой, необходимых для эффективного синтеза фенольных соединений.

Суспензионные культуры клеток голубики щитковой инициировали путем переноса 1 г рыхлого каллуса в 40 мл жидкой питательной среды WPM, дополненной фитогормонами (2,4-Д/БАП, 0,5/0,5 мг/л) и гидролитическими ферментами (пектиназа, целлюлаза). Суспензии культивировали на орбитальных шейкерах со скоростью вращения 120 об/мин и радиусом вращения 1 или 2 см на свету с фотопериодом 16 часов. В качестве инокулюма использовали каллусы, полученные из листьев микроклонально размножаемых растений. Для снижения агрегированности культур использовали добавление ферментов, изменяли концентрацию кальция. Использовалось различное сочетание фитогормонов ауксинов (2,4-Д, НУК) и цитокининов (БАП, кинетин, изопентениладенин) в разных концентрациях (0.5, 1, 1.5 мг/л). Морфологические и биохимические анализы включали определение количества клеток и их жизнеспособности, сырой и сухой биомассы, содержания растворимых фенольных соединений (РФС), флавоноидов, катехинов, проантоцианидинов.

Получение хорошо растущих суспензионных культур клеток голубики щитковой из каллусов листового происхождения происходило в течение 4-5 пассажей (2-3 месяца). При этом использование пектиназы и целлюлазы ускоряло получение низкоагрегированной суспензии с агрегатами, включающими не более 10 клеток. Клетки, культивируемые на шейкерах с радиусом вращения 1 см, имели преимущественно округлую форму и размер в диапазоне от 40 до 90 мкм; на шейкерах с радиусом вращения 2 см – более вытянутую форму и размер до 110-140 мкм. Клетки, культивируемые на шейкерах с радиусом вращения 2 см, накапливали растворимые фенольные соединения до 37 мг/г сырой массы, флавоноиды – до 11 мг/г сырой массы, катехины – до 8 мг/г сырой массы, проантоцианидины – до 23 мг/г сырой массы, что до 10 раз больше, чем в случае с радиусом вращения 1 см и сопоставимо с содержанием этих групп фенолов в листьях.

Культуры клеток достигали стационарной фазы роста через 16-18 дней после пересадки. Изменение pH свежей питательной среды с 5 до 4 отрицательно сказывалось на росте культуры и снижало жизнеспособность клеток, что объяснялось тем, что при культивировании клеток голубики происходит дополнительное закисление питательной среды на 1.2-1.7 единицы pH. Снижение концентрации кальция также замедляло рост культур и уменьшало накопление в клетках фенолов. Прирост сырой биомассы клеток за пассаж составлял 380% (с 2.7 до 7.6 г/л), сухой – 460% (с 0.4 до 1.4 г/л). Перевод клеток со среды с 2,4-Д/БАП на среды с НУК/Кин или НУК/иП приводил к резкому увеличению сырой массы – до 13-17 г/л. При этом сухая масса была практически неизменной.

Фитогормоны влияли на накопление фенолов в клетках. Наиболее выраженное влияние гормонального состава среды было отмечено в отношении проантоцианидинов: в клетках на средах с НУК и цитокинином их содержание было до 4 раз выше, чем в клетках на средах с 2,4-Д и цитокинином. Максимальному приросту содержания фенольных соединений способствовало добавление в среду изопентиладенина.

Таким образом, суспензионные клетки голубики щитковой, культивируемые на свету, на орбитальных шейкерах с радиусом 2 см, в питательной среде WPM в присутствии НУК и изопентиладенина являются перспективной культурой для получения ценных фенольных соединений.

Использование консорциумов микроорганизмов в восстановлении нефтезагрязненных земель

Бухарина И.Л., Лямзин В.И.

Удмуртский государственный университет, ул. Университетская 1, Ижевск, Россия.
buharib@udmlink.ru

В природных условиях с непостоянством климатических и физико-химических параметров, а также наличием факторов, ингибирующих рост микроорганизмов, продолжительность утилизации нефтяных углеводородов значительно возрастает и требует многократного внесения биопрепаратов и минеральных удобрений. Существует проблема узкого диапазона применения углеводородокисляющих микроорганизмов при проведении биологического этапа рекультивации нефтезагрязненных почв. Появляется необходимость в применении биологических препаратов совместно с популяциями других биологических агентов, которые способны не только поддерживать необходимый микроэлементный состав в очищаемой почве, но и полностью формировать почвенную экосистему. Такими биологическими агентами являются, к примеру, микроскопические эндотрофные грибы, которые способны усиливать роль нефтеразрушающих микроорганизмов и повышать устойчивость растений при проведении биологического этапа рекультивации земель.Микроскопические эндотрофные грибы создают благоприятную среду для углеводородокисляющих микроорганизмов, поддерживая оптимальное значение pH почвенного раствора, уровень влажности почвы, эффективное использование минеральных элементов.

Были проведены исследования по выявлению пределов устойчивости к действию различных концентраций тяжелых металлов и содержанию нефти для ряда изолятов (культур) микроскопических эндотрофных грибов, выделенных из урбанопочв с высоким уровнем загрязнения. Исследования позволили выявить широкие пределы толерантности микроскопических грибов, в частности, *Fusarium equiseti* и *Cylindrocarpon magnusianum*, к техногенному загрязнению.

Далее в условиях лабораторных экспериментов было исследовано влияние сочетания биопрепарата «Микрозим Петро Трит», содержащего ряд бактерий деструкторов нефти, и микроскопических грибов на эффективность разложения нефтепродуктов. Опыт включал ряд вариантов: биопрепарат «Микрозим Петро Трит» (Контроль); фитомелиорант (мятлик луговой - *Poa pratensis* L.); фитомелиорант + микроскопические грибы; «Микрозим Петро Трит» + фитомелиорант + микроскопические грибы (консорциум). Эксперимент проводился на двух типах почв по гранулометрическому составу: супесь и средние суглинки. Продолжительность эксперимента составила 6 месяцев. Эксперимент был проведен в моделируемых условиях климатической камеры BINDERKBWF: дневной режим: температура +23°C, максимальное освещение 15000 лк и вентиляция; ночной режим: температура +18°C, вентиляция и отсутствие освещения.

Результаты исследований показали наибольшую эффективность использования *Cylindrocarpon magnusianum*. По окончании эксперимента установлено, что в вариантах с 5% внесением нефти (средние суглинки), ее содержание: в Контроле составило 9900±1500 мг/кг; в вариантах с фитомелиорант и фитомелиорант + грибы составило 13800±3500 и 10100±2500 мг/кг соответственно, что находится в рамках статистической погрешности. Достоверно эффективные различия получены при использовании полного консорциума мелиорантов и составило 5400±1600 мг/кг. Также достоверная разница результатов установлена и при 10% загрязнении, причем именно при использовании консорциума мелиорантов (Контроль - 20300±2100 и полный консорциум - 14300±2800). На супесчаных почвах также зафиксировано достоверное снижение содержания нефти в варианте полного консорциума по сравнению с контролем (11000±2800 и 7000±1300 соответственно), но лишь при моделировании 5% загрязнения почв нефтью.

Также оценивали показатель биологической (инвертазной) активности почв. На среднесуглинистой почве при 5 и 10 % содержании нефти показатель инвертазной активности почв превышал контроль (11.5±1.4, доверительный интервал среднего значения 10.1…12.9 и 13.5 ± 1.1 доверительный интервал 12.4…14.6 соответственно) в варианте фитомелиорант+ грибы (18.2±0.7 доверительный интервал 17.5…18.9 и 21.1 ± 0.8 доверительный интервал 20.3…21.9 соответственно), и максимально −в варианте полного консорциума мелиорантов (19.9±0.7, доверительный интервал 19.2…20.6 и 22.3 ± 0.9 доверительный интервал 21.,4…23.,2 соответственно при 5 и 10% загрязнении нефтью). На супесчаных почвах достоверное увеличение биологической активности почв по сравнению с контролем установлено при 5% внесении нефти и лишь в варианте в использования полного консорциума мелиорантов (27.6±2.4, доверительный интервал 25.2…30.0, где контроль 21.0±3.3 доверительный интервал 17.7…24.3)

Данные результаты позволяют констатировать эффективность совместного действия биопрепарата и микроскопических грибов в очистке и восстановлении нефтезагрязненных почв.

Салициловая кислота регулирует рост и метаболизм каллусной культуры горькуши оргаадай

Головацкая И.Ф., Матвейкина Д.А., Кадырбаев М.К., Бойко Е.В., Медведева Ю.В., Большакова М.А.

Научный исследовательский Томский государственный университет, пр. Ленина, 36, Томск, Россия.
golovatskaya.irina@mail.ru

Известно, что салициловая кислота (СК) участвует в ростовых процессах растений. Остаётся неизученной роль этого гормона в росте каллусной культуры растений. В связи с этим было исследовано действие 10 мкМ СК на рост и метаболизм двух линий каллусной культуры *Saussurea orgaadayi* V. Khan. and Krasnob.

Было установлено, что исследуемая гипокотильная линия (ГЛ) каллусной культуры горькуши оргаадай характеризовалась интенсивным ростом по сравнению семядольной линией (СЛ). При действии СК отмечали активирование роста каллуса, начиная с 21 по 35 сутки. Действие СК на более позднем этапе культивирования ГЛ могло быть связано с накоплением определённого уровня гормона в клетках культуры или торможением старения культуры. В противоположность ГЛ культуры, прирост биомассы медленно растущей СЛ культуры уменьшался.

Рост разных линий каллусной культуры сопровождался накоплением воды. Наиболее активно растущей ГЛ культуры соответствовал и больший водный потенциал.

Изучение уровня и динамики относительной электропроводности (ОЭТ) показало, что проницаемость мембран была выше у быстрорастущей ГЛ культуры по сравнению с медленнорастущей СЛ. Кроме того, отмечена зигзагообразная динамика показателя у СЛ, что могло также обусловливать неравномерный обмен веществ клеток, приводящий к торможению ростовых процессов. Действие СК также вносило изменения в темпы роста клеток, поскольку отмечалась зигзагообразная кривая ОЭТ у ГЛ культуры.

Все ростовые процессы клеток были обусловлены метаболическими процессами, происходящими в них. Наиболее интересным показателем состояния клеток служил их окислительный статус, вызываемый активными формами кислорода (АФК). В растительных клетках, культивируемых в темноте, основным поставщиком АФК выступало темновое дыхание. Установлено, что в процессе роста контрольной ГЛ каллусной культуры происходило увеличение интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ) с последующим его торможением после 21 суток. Воздействие экзогенной СК на 7 сутки приводило к увеличению интенсивности ПОЛ в 2,7 раза относительно контроля, а уже к 14 суткам к снижению до контрольного уровня и дальнейшему снижению. Причинами снижения могли быть или активация функционирования антиоксидантных систем, или снижение интенсивности темнового дыхания, как источника АФК.

У СЛ культуры отметили 2-х вершинную кривую динамики содержания МДА. При этом окислительный статус клеток СЛ оставался высоким на протяжении всего времени культивирования, что возможно и обусловливало низкие темпы её роста. Действие СК только на 14 сутки достоверно снижало интенсивность ПОЛ, не меняя высокий его уровень.

Показана зависимость окислительного статуса клеток контрольной ГЛ от уровня пролина. Уменьшение пролина в каллусной культуре сопровождалось увеличением интенсивности ПОЛ и наоборот.

Содержание пролина в клетках ГЛ на 7 сутки было в 2 раза ниже, чем у СЛ. При этом происходило снижение его уровня у ГЛ (на 14 сутки), но увеличение у СЛ (на 21 сутки). Действие СК увеличивало уровень пролина у СЛ культуры на 7 сутки с последующим снижением, тогда как у ГЛ повышало с 21 по 28 сутки относительно контроля с последующим снижением.

Увеличение уровня пролина в период с 21 по 28 сутки под действием СК согласовалось с активным ростом биомассы ГЛ культуры. На основе этого можно предположить, что уровень пролина определял осмотичность содержимого клетки, а, следовательно, приток воды и рост клеток. С другой стороны, пролин мог выступать источником азота, необходимого для роста. Так, у ГЛ прирост биомассы каллуса происходил активнее после 28 суток, что сопровождалось снижением уровня пролина.

Таким образом, выяснено, что каллусные культуры горькуши, полученные из разных структурных элементов ее проростков, характеризовались неодинаковой интенсивностью ростовых процессов. В условиях однотипной питательной среды МС в присутствии гормонов 2,4 Д и 6-БАП (4:1) ГЛ каллусной культуры отличалась более интенсивным ростом, чем СЛ. Показано, что причинами высокой скорости роста ГЛ каллусной культуры служили большая проницаемость мембран и оводнённость клеток по сравнению с СЛ. Установлено, что СК увеличивала рост ГЛ культуры, но тормозила прирост биомассы СЛ. Эффективность СК повышалась на поздних этапах культивирования каллуса, что могло быть связано с необходимостью накопления определенного эндогенного уровня фитогормона. Установлено, что 10 мкМ СК повышала интенсивность ПОЛ у быстрорастущих культур, однако при селекции клеток их окислительный статус снижался. Установлено, что СК изменяла уровень пролина в соответствии с этапом культивирования и скоростью роста.

Полученные данные показывают возможность разработки способа повышения СК продуктивности каллусной культуры *S. orgaadayi*.

Исследование выполнено при поддержке Программы развития Томского государственного университета (Приоритет-2030).

Использование тандемного вектора для анализа цис-регуляторных элементов в растениях

Демьянчук И.С., Тюрин А.А., Сухорукова А.В., Фридман В.А., Голденкова-Павлова И.В.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Ботаническая ул., 35, Москва, Россия.
Demyan.Ilya253@yandex.ru

Агроинфильтрация растений уже давно стала одним из основных подходов к тестированию генов и регуляторных элементов.

Цель данного исследования - создание бирепортерного вектора, содержащего тандемную связку системы внутреннего контроля и основной экспрессионной кассеты.

Для конструирования основной плазмиды применяли CPEC (circular polimerase extension cloning). Агроинфильтрацию 4-хнедельных растений *N.benthamiana* проводили, используя *A.tumefaciens* (GV3101). Уровни экспрессии целевых генов оценивали по флюоресценции их продуктов. Статистическую обработку данных и их визуализацию проводили, задействуя библиотеки SciPy и Matplotlib для Python.

Бирепортерный вектор pIRF разрабатывался для тестирования трансляционных цис-регуляторных элементов. Основой для тандемного вектора послужила, ранее разработанная авторами, плазмида pVIG-T, оптимизированная для транзиентной экспрессии в растениях. Система внутреннего контроля представлена геном *gfp* под контролем промотора актина арабидопсиса, целевая экспрессионная кассета включает ген *rfp* и промотор SmAM430.

Для тестирования созданного вектора в базовую плазмиду в дельнейшем были интегрированы известные трансляционные энхансеры: растительного (AT30, AT65, AT100 и AT208) и вирусного (Ω) происхождения.

Главной идеей при разработке pIRF было то, что физическое сцепление двух репортерных систем даст линейную зависимость при их трансляции. Поэтому для анализа данных флюориметрии применяли линейную регрессию. Таким образом, уровни экспрессии исследуемых конструкций выражались наклоном регрессионной прямой относительно контрольного варианта.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 121033000137-1).

Повышение эффективности симбиотических систем нута (*Cicer arietinum* L.)

Донская М.В.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр зернобобовых и крупяных культур», 302502, д. 10, корп. 1, ул. Молодежная, п. Стрелецкий, Орловский район, Орловская область, Россия.
nmaria_87@mail.ru

Бобовые культуры обладают способностью формировать симбиозы с полезными почвенными микроорганизмами: клубеньковыми бактериями, грибами арбускулярной микоризы и ростстимулирующими ризосферными микроорганизмами. Важное практическое значение имеют бобово-ризобиальный симбиоз и арбускулярная микориза, в результате которых растения могут развиваться в условиях дефицита азота, происходит ассимиляция труднорастворимых фосфатов, улучшаются условия роста растений.

Нут (*Cicer arietinum* L.) древнейшая пищевая и кормовая культура, возделывается в мире на площади 17 млн. га. В симбиозе с клубеньковыми бактериями вида *Mesorhizobium ciceri* растения нута способны усвоить за вегетацию до 120-150 кг/га азота воздуха. Наличие в почве специфичных вирулентных штаммов ризобий является главным условием активного симбиоза. Нут отличается высокой степенью микоризации. В условиях Орловской области нут широко не возделывался. Его внедрение сдерживается, с одной стороны, небольшим количеством сортов, адаптированных к условиям региона, с другой, отсутствием адаптивной технологии возделывания, включающей создание эффективных симбиотических систем.

Цель исследований заключалась в оценке исходного материала нута культурного (*Cicer arietinum* L.) по отзывчивости к применению микробиологических препаратов при возделывании в условиях Орловской области. Работу выполняли в 2014…2016 гг. в полевом севообороте ФНЦ ЗБК. Материалом исследований служили 13 сортов нута культурного (*Cicer arietinum* L.). Схема опытов включала контроль и варианты с моно- и двойной инокуляцией семян ризоторфином (штаммы 527, 522, 065 на основе клубеньковых бактерий *Mesorhizobium ciceri*) и внесением в почву перед посевом почвенно-корневой смеси, содержащей грибы арбускулярной микоризы (*Glomus intraradices*, штамм 8, и *Glomus fasciculatum*, штамм 7). Площадь опытных делянок 5 м^2. Микробиологические препараты были получены из ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии (г. Санкт-Петербург-Пушкин).

Установлено, что наиболее мощный и активный симбиотический аппарат у нута формировался в период цветения – начала формирования бобов. Максимальное количество клубеньков (134) образовалось у сорта Аватар в варианте с азотфиксирующими бактериями *Mesorhizobium ciceri* штамм 065, наибольшее значение активности нитрогеназы (155,79 мкг N_2/раст. час) отмечалось у этого же сорта в варианте с двойной инокуляцией штаммом 527 и грибами АМ.

Применение микробиологических препаратов увеличивало продолжительность вегетационного периода сортов на 1…7 суток по сравнению с контролем, а также приводило к значительному накоплению зеленой массы растений. Наибольший прирост биомассы (+49,2 % к контролю) наблюдался у сорта Аватар в варианте с инокуляцией штаммом 065.

Моно-и двойная инокуляция семян нута разными штаммами *Mesorhizobium ciceri* и внесение в почву перед посевом субстрата, содержащего грибы АМ, увеличивали высоту растений до 23,4 % по сравнению с контролем, массу сухого растения до 70,1 % к контролю, число семян с растения до 69,1 %, семенную продуктивность до 71,4 %, массу 1000 семян до 36,9 % по сравнению с контролем.

В результате проведенных исследований было показано, что моно- и двойная инокуляция разными штаммами *Mesorhizobium ciceri* и грибами АМ положительно влияла на динамику развития нута, растения в целом выглядели более здоровыми, чем на контрольных делянках, что подтверждает положительное влияние почвенных симбиотических микроорганизмов на устойчивость растений к биотическим стрессам. Более интенсивная окраска листьев в вариантах с применением микробных препаратов свидетельствует о повышенной активности фотосинтеза, а увеличение продолжительности вегетационного периода - о более длительном накоплении биомассы, что согласуется с аналогичными исследованиями, проведенными на горохе.

На эффективность работы симбиотической системы существенное влияние оказывают как погодно-климатические условия, так и генотип. Максимальный эффект от двойной инокуляции отмечался у большинства сортов в 2014 и в 2016 годах, которые характеризовались повышенным температурным режимом. Это можно объяснить тем, что микоризные грибы при заселении увеличивали поглотительную поверхность корней и площадь питания растений нута, так как арбускулярная микориза, распространяясь в межклеточном пространстве внутри корня, формирует снаружи мицелий, по которому в растение через корни поступают дополнительная влага и растворенные в ней питательные вещества (преимущественно труднодоступные фосфор и азот).

Генотипы, характеризующиеся высокой отзывчивостью на применение микробиологических препаратов, включены в селекционные программы на повышение эффективности симбиоза.

Реакция эксплантов *Pinus sylvestris* L. и *Picea abies* (L.) Karst. на различные концентрации фитогормонов в питательной среде

Ершова М.А., Чирва О.В., Игнатенко Р.В., Прокопюк В.М., Галибина Н.А.

Федеральный исследовательский центр «Карельский научный центр Российской академии наук»,
Пушкинскаяул., 11, Петрозаводск, Россия.
maria_ershova_karnc@mail.ru

Подбор условий культивирования является принципиально важным этапом при запуске биотехнологических методов размножения растений. Питательные среды, которые используются для массового тиражирования растений, могут отличаться содержанием основных компонентов, таких как микро- и макроэлементы, витамины, источники углеводов, но особое внимание уделяют составу, концентрациям и соотношению регуляторов роста растений.

Сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.) и ель европейская (*Picea abies* (L.) Karst.) являются основными лесообразующими и экономически ценными древесными породами на территории Европейского Севера России. Данные виды, как и большинство других хвойных, считаются трудноподдающимися размножению биотехнологическими методами. Одной из проблем является подбор оптимальных концентраций регуляторов роста для разных видов хвойных из различных географических районов произрастания. В связи с этим, целью данного исследования было изучение влияния различных концентраций фитогормонов на развитие зрелых семян *P. sylvestris* и *P. abies* в культуре *in vitro*.

В ходе исследования было проанализировано 12 вариантов питательных сред на основе DCR, отличающихся по содержанию регуляторов роста. Подбор различных вариантов питательных сред осуществлялся в соответствии с литературными данными. Источником ауксина служили 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4-D) и α-нафтилуксусная кислота (НУК), в качестве цитокинина использовали 6-Бензиламинопурин (6-БАП) в следующих концентрациях: (1) 9,0 мкМ 2,4-D, 4,4 мкМ 6-БАП; (2) 13,6 мкМ 2,4-D, 2,2 мкМ 6-БАП; (3) 2,2 мкМ 2,4-D, 2,2 мкМ 6-БАП; (4) 9,0 мкМ 2,4-D, 9,0 мкМ 6-БАП; (5) 4,4 мкМ 2,4-D, 4,4 мкМ 6-БАП; (6) 13,6 мкМ 2,4-D, 13,6 мкМ 6-БАП; (7) 4,4 мкМ 6-БАП; (8) 9,0 мкМ 2,4-D; (9) 9,0 мкМ 2,4-D, 2,2 мкМ 6-БАП; (10) без гормонов; (11) 13,6 мкМ 2,4-D, 9,0 мкМ 6-БАП; (12) 2,7 мкМ НУК, 9,0 мкМ 6-БАП. В качестве эксплантов использовали зрелые семена *P. sylvestris* из среднетаежной подзоны Карелии с 40-летних клонов плюсовых деревьев, произрастающих на Петрозаводской лесосеменной плантации I порядка (ЛСП), и парка на территории г. Петрозаводска (20 лет), а также семена *P. abies* (60-80 лет) из Калевальского (подзона северной тайги) и Лахденпохского (подзона средней тайги) районов Карелии. В условиях ламинарного бокса стерилизованные семена очищали от кожуры и помещали на субстрат. В течение 2 месяцев экспланты культивировали в темноте при температуре 25±1°С. Каждые 7 дней проводили описание происходящих процессов.

В рамках исследования в культуру *in vitro* было введено по 336 мегагаметофитов *P. sylvestris* с клонов плюсовых деревьев и растений из парка. Первой реакцией эксплантов на искусственные условия было набухание. Доля набухших эксплантов с ЛСП и парка была высокой и составляла 95-98%. Затем большая часть мегагаметофитов развивалась в растения или каллус, а часть никак не изменялась. Установлено, что семена с ЛСП, введенные в культуру *in vitro*, формировали каллус на субстратах № 5, 7, 9 и 12, а из парка на питательных средах № 4, 8, 9 и 12. При этом частота инициации каллусообразования на субстратах № 9 и 12, была в 2 раза выше у семян, собранных в парке, чем с ЛСП, и составила 7,1 и 3,6% соответственно. Растения из эксплантов развивались на субстратах № 3, 7, 10, 12 в обоих вариантах эксперимента, однако мегагаметофиты из парка формировали растения также на субстратах № 1, 9 и 11.

Из зрелых семян *P. abies* в культуру было введено 287 эксплантов (143 шт. – Калевальский район и 144 шт. – Лахденпохский район). Доля набухших мегагаметафитов незначительно отличалась для семян из разных районов и составляла 88% для северотаежной подзоны и 73% для подзоны средней тайги. Каллус активнее формировался у эксплантов собранных в Калевальском районе (инициацию зафиксировали на питательных средах № 2, 4, 5, 6, 7, 10, 11 и 12). Мегагаметафиты с Лахденпохского района образовывали каллус на меньшем числе субстратов – № 2, 4, 9, 11 и 12. При этом одинаковый процент инициации каллуса для эксплантов из Калевальского района отмечали на питательных средах № 2, 6, 11 и 12 (17%), а для мегагаметафитов из Лахденпохского района на субстратах № 11 и 12 (25%). На питательной среде № 12 из метатаметафитов обеих популяций формировались растения, однако экспланты со среднетаежной популяции образовывали растения и на субстрате № 10.

На основании проведенного исследования были выявлены наиболее благоприятные сочетания регуляторов роста в питательной среде для инициации каллусообразования из мегагаметафитов зрелых семян у *P. sylvestris* и *P. abies*.

Гены *MtWOX* в регуляции соматического эмбриогенеза у *Medicago truncatula*

Ефремова Е.П., Творогова В.Е., Лутова Л.А.

Санкт-Петербургский государственный университет, Университетская наб. 7/9, Санкт-Петербург, Россия.
elenaefr95@gmail.com

Многие виды растений обладают способностью к регенерации посредством соматического эмбриогенеза (СЭ): в ходе этого процесса одиночные соматические клетки или группы клеток формируют структуры, сходные с зиготическими эмбрионами, которые способны дать начало новому растению. В настоящее время СЭ широко применяется в биотехнологии для генетической модификации, а также для размножения растений, которые сложно получить другим способом. Многие виды растений не способны к СЭ, поэтому поиск стимуляторов этого процесса важен для совершенствования методов получения соматических эмбрионов.

Гены семейства *WOX*, кодирующие транскрипционные факторы с гомеодоменом, являются важными регуляторами пролиферации и дифференцировки у растений. Ранее в наших исследованиях было установлено, что сверхэкспрессия гена *MtWOX9-1* приводит к значительному увеличению эмбриогенности и более раннему началу формирования соматических эмбрионов у *Medicago truncatula*. Для поиска мишеней данного транскрипционного фактора и изучения механизма его работы мы планируем провести поиск локусов, с которыми связывается транскрипционный фактор MtWOX9-1, с помощью метода ChIP-Seq.

Кроме того, мы предположили, что и другие гены *WOX* у *M. truncatula* могут оказывать влияние на СЭ, поэтому вторым направлением нашей работы является поиск новых регуляторов СЭ среди генов семейства *WOX* у *M. truncatula*. Мы планируем получить каллусы со сверхэкспрессией этих генов *WOX* и провести сравнительную оценку эффекта их сверхэкспрессии на интенсивность соматического эмбриогенеза и каллусообразования у *Medicago truncatula*.

Результаты, полученные в ходе наших исследований, могут оказаться полезными как для фундаментальных исследований, так и для разработки новых методов размножения и трансформации растений с помощью СЭ.

Исследование осуществляется при поддержке гранта РФФИ (20-016-00124).

Стимуляция стевиозидом ростовых процессов у проростков *Rhodiola rosea* L.

Киселева А.С., Галиханова У.А., Тимофеева О.А.

Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Кремлевская ул., 18, Казань, Россия.
anykisely@gmail.com

Rhodiola rosea L. (родиола розовая) – ценное лекарственное растение, которое на сегодняшний день занесено в Красную книгу Российской федерации. Основной причиной исчезновения данного ресурсного вида можно назвать неконтролируемый сбор лекарственного растительного сырья – корней и корневищ родиолы, содержащих ценные биологически активные вещества (БАВ). Усугубляют ситуацию и биологические особенности *R. rosea,* связанные с необходимостью длительной стратификации семян, их низкой всхожестью и высоким процентом гибели проростков первого года. В связи с этим, для сохранения вида или для разработки биотехнологических подходов получения ценных БАВ введение родиолы розовой в культуру *in vitro* является актуальной задачей.

Для стимуляции процесса прорастания семян мы использовали гиббереллин-подобное соединение – стевиозид (энт-каурановый гликозид растения *Stevia rebaudiana*, который обладает структурным сходством с гибберелловой кислотой). Проведенные ранее исследования свидетельствуют о стимуляции ростовых процессов у *Triticum aestivum* после предпосевной обработки семян стевиозидом (3 ч, 10^{-8} М). Для подбора оптимального времени экспозиции стратифицированных семян родиолы розовой в растворе стевиозида часть семян перед посадкой обрабатывали исследуемым веществом в концентрации 10^{-8} М в течение разного времени: 3, 6, 12, 24 ч. Контрольные семена замачивали на 24 часа в водопроводной воде. Проростки выращивали на фильтровальной бумаге в чашках Петри в течение двух месяцев при 16/8-часовом фотопериоде (свет/темнота).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что стевиозид действительно стимулирует прорастание семян родиолы розовой относительно контроля: к 3-им суткам только в опытных вариантах с замачиванием в растворе стевиозида обнаружили проросшие семена. Прорастание составило 30% во всех опытных вариантах, кроме варианта с замачиванием на 24 ч (10%). По-видимому, более длительные экспозиции семян родиолы розовой в растворе стевиозида оказывают ингибирующий эффект. Контрольные семена проросли только на 7-е сутки наблюдения.

К 60-му дню наблюдений максимальный процент проросших семян наблюдали в варианте с 3-х и 12-ти часовой обработкой стевиозидом – по 40%, в контроле – 30%.

Установлено, что замачивание семян в растворе стевиозида на 3 и 12 часов одинаково стимулирует прорастание семян, но по-разному влияет на рост проростков родиолы. Несмотря на то, что оба варианта стимулируют рост надземной части растений относительно контроля, только кратковременная обработка стевиозидом вызывает увеличение длины подземной части родиолы розовой. Кроме того, исследуемый энт-каурановый гликозид вызывает увеличение количества листьев и корней у проростков родиолы в культуре *in vitro*. По-видимому, биомасса опытных растений оказывается выше контрольных, что может позволить значительно повысить коэффициент размножения *Rhodiola rosea* L. в культуре *in vitro*. По данным, полученным нашей исследовательской группой ранее, стевиозид смещает баланс фитогормонов у *Triticum aestivum* в сторону накопления ауксинов и цитокининов. Наблюдаемая стимуляция ростовых процессов у проростков *Rhodiola rosea* L. в культуре *in vitro* также может быть связана с изменением гормонального баланса. Таким образом, полученные данные позволяют предположить, что стевиозид может быть использован в качестве стимулятора роста родиолы розовой в культуре *in vitro.*

Crambe maritima L.: получение каллусных тканей, индукция морфогенеза и получение растений-регенерантов

Ковальчук Д.И., Бугара И.А., Омельченко А.В., Ржевская В.С.

Институт биохимических технологий, экологии и фармации ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», проспект Академика Вернадского, 4, Симферополь, Россия.
dara.kovalchuk@mail.ru

Высокая антропогенная нагрузка и проблемы семенного возобновления, привели к снижению численности *Crambe maritima* L. в Крыму. Это растение имеет статус редкого. Следовательно, разработка эффективных способов сохранения и размножения данного вида, в том числе, основанных на культуре изолированных клеток, тканей и органов *in vitro* является актуальной задачей.

Молодые листья растения использовали в качестве эксплантов для получения каллусных культур. Листовые экспланты стерилизовали в 15% растворе гипохлорита натрия 14 минут на магнитной мешалке. Для культивирования эксплантов использовали агаризованную питательную среду Мурасиге и Скуга, содержащую 6-бензиламинопурин (6-БАП) – 0,5 мг/л, 2,4-дихлорфеноксиуксусную кислоту (2,4-Д) – 2,0 мг/л и кинетин – 0,1 мг/л. Дальнейшее культивирование проводили в лабораторном инкубаторе Climacell.

На 12 – 14 сутки культивирования визуально обнаруживались первые признаки каллусообразования. Каллусные культуры пассировали на агаризованную питательную среду Мурасиге и Скуга, содержащую 6-БАП – 5,0 мг/л и индолил-3-уксусную кислоту (ИУК) – 0,5 мг/л. для индукции морфогенеза. Через 25 – 30 суток визуально обнаруживались начальные признаки морфогенеза, которые были связаны с закладкой листьев и развитием корневой системы. Через 60 суток культивирования *in vitro* растения-регенеранты переносили в пластиковые стаканы с субстратом. Стаканы с растениями-регенерантами помещали в условия лабораторного помещения. При этом, их накрывали стеклянными колпаками первые 15 суток для поддержания повышенной влажности. Полив проводили не реже двух раз в неделю.

Результаты наших исследований показывают, что культура изолированных клеток, тканей и органов *in vitro* имеет перспективу использования для получения каллусных культур, последующей индукции морфогенеза и получения растений-регенерантов. Исходя из этого, а также беря во внимание природоохранный статус растения, альтернативой сохранению *C. maritima* в ботанических садах и особо охраняемых природных территориях является культура каллусных тканей.

Поиск индукторов соматического эмбриогенеза у представителей семейства *Fabaceae*

Козлов Н.В., Красноперова Е.Ю., Поценковская Э.А., Творогова В.Е., Лутова Л.А.

Санкт-Петербургский государственный университет, Университетская наб., 7/9, Санкт-Петербург, Россия.
bionkbio@gmail.com

Семейство бобовых (*Fabaceae*) насчитывает более 24 тыс. видов, обитающих в самых разных климатических зонах. По своим жизненным формам они также весьма вариативны и могут представлять собой: травы, кустарнички, кустарники, деревья. Члены данного семейства имеют огромное значение в животноводстве, фармацевтике, пищевой и деревообрабатывающей промышленности. Кроме того, в силу своей способности к образованию клубеньковых симбиозов с азотфиксирующими бактериями, бобовые также могут использоваться агропромышленными хозяйствами в качестве экологически чистого удобрения. На сегодняшний день именно представители бобовых занимают большую часть посевных площадей сельскохозяйственных угодий (главным образом за счёт сои) и число пахотных земель, засеваемых зернобобовыми, год от года неуклонно растёт. Помимо огромного практического значения, данная группа растительных организмов также интересна и с фундаментальной точки зрения, а потому представители этого семейства часто используются в качестве модельных объектов в таких областях как: генетика, биотехнология, физиология, биохимия, анатомия и морфология, экология растений. Данное исследование проводится на двух модельных объектах из семейства бобовых (*Fabaceae*): Люцерне усечённой (*Medicago truncatula*) и Горохе посевном (*Pisum sativum*). Его целью является поиск универсальных индукторов соматического эмбриогенеза у представителей семейства бобовых (*Fabaceae*). Само же явление соматического эмбриогенеза, также, как и бобовые, представляет немалое практическое и фундаментальное значение. Так с практической точки зрения оно может быть использовано для ускорения размножения растений с продолжительным жизненным циклом, получения искусственных семян, создания новых сортов посредством сомаклональной изменчивости и селекции, размножения удачных вариантов генотипов (в т.ч. гетерозисных гибридов). С фундаментальной же точки зрения, данная работа может быть полезна для выяснения молекулярно-генетических механизмов, ответственных за регуляцию клеточных дифференцировок, процессов бесполого (вегетативного) размножения, регенерации, явлений соматического эмбриогенеза, а также в разработке вопросов, связанных с возникновением многоклеточности и поддержанием многоклеточного состояния организма.

В работе изучается влияние сверхэкспрессии базальных транскрипционных факторов семейств NF-Y (NUCLEAR FACTOR-Y) и WOX (WUSCHEL-LIKE HOMEOBOX) на соматический эмбриогенез каллусных культур *M.truncatula* и *P.sativum*. Предпринимаются попытки решения проблемы низкой эффективности трансформации *P.sativum*, а также создания легко трансформируемой линии гороха посевного. Более того, осуществляются попытки визуализации и описания динамики экспрессии вышеописанных генов в процессе развития каллусов и соматических эмбрионов на них.

Исследование проводится при финансовой поддержке РФФИ (20-016-00124).

Транскриптомный анализ каллусов *Medicago truncatula* со сверхэкспрессией *MtWOX2*

Красноперова Е. Ю., Творогова В. Е., Лутова Л. А.

Санкт-Петербургский государственный университет, Университетская наб., 7-9-11, Санкт-Петербург, Россия.
eliz.krasnoperova@gmail.com

Одним из способов регенерации растений является соматический эмбриогенез (СЭ). В ходе СЭ эмбрионы образуются не из генеративных тканей, как при зиготическом эмбриогенезе, а из вегетативных. Этот процесс широко используется в биотехнологии для трансформации и размножения растений. Соматические эмбрионы могут образовываться непосредственно из вегетативных тканей или через промежуточный этап образования каллуса. Поиск стимуляторов СЭ является важной задачей для биотехнологии растений.

Известны многие гены-регуляторы этого процесса, среди них представители семейства *WOX* (*WUSCHEL-RELATED HOMEOBOX*), кодирующие гомеодомен-содержащие факторы транскрипции, участвующие в различных процессах развития. *WOX2* известен своим участием в зиготическом эмбриогенезе. Он экспрессируется в зиготе, а затем в апикальном домене эмбриона. Мы изучаем роль этого гена в соматическом эмбриогенезе. Сверхэкспрессия *MtWOX2* в некоторых случаях приводит к развитию эмбриогенных каллусов увеличенного размера. Мы провели анализ транскриптома каллуса *Medicago truncatula* со сверхэкспрессией этого гена, используя в качестве контроля каллусы со сверхэкспрессией *GUS*.

Мы показали, что сверхэкспрессия *MtWOX2* приводит к изменению уровня экспрессии ряда генов,в том числе групп генной онтологии, связанных с окислительным стрессом и образованием АФК, ответом на токсичные вещества и передачей ауксинового сигнала. Среди дифференциально экспрессирующихся генов также представлены гены ТФ из нескольких семейств, например, MADS-box, BHLH, MYB, bZIP и другие. Эти гены могут регулировать развитие эмбриогенного каллуса. В совокупности эти результаты могут быть использованы для поиска новых регуляторов морфогенеза, применимых для трансформации растений.

Работа поддержана грантом РФФИ (20-016-00124).

Влияние засухи и нефтяного загрязнения на содержание фотосинтетических пигментов *Sorghum bicolor* L., выращенного в консорциуме с ризосферными бактериями и грибами

Крючкова Е.В., Дубровская Е.В., Муратова А.Ю., Бондаренкова А.Д., Панченко Л.В., Турковская О.В.

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, г. Саратов.
kryu-lena@yandex.ru

Роль фотосинтетических пигментов в энергообмене и продуктивности растений очевидна. Анализ их соотношения и количества используется как индикатор воздействия различных факторов на растения.

Цель работы заключалась в определении влияния абиотических факторов-нефти и низкой влажности, и биотических-ризосферных бактерий (*Azospirillum brasilense* SR80) и высших грибов (*Pleurotus ostreatus* Jacq.) на содержание и соотношение форм фотосинтетических пигментов *Сорго зернового*.

В эксперименте варьировали способ внесения бактерий и грибов, а также их сочетания. Каждый вариант готовили с добавлением нефти (10 г/кг) и без. Растения выращивали в фитокомнате в течение двух месяцев в режиме день/ночь 14 ч, освещённости 10 клк, и относительной влажности 50 %. Для анализа брали третий сформировавшийся лист длинной 10 см. Пигменты экстрагировали диметилсульфоксидом без гомогенизации растительного материала в термостате при 65°С. Экстракты анализировали на спектрофотометре в диапазоне 400-800 нм, определяя концентрацию и содержание пигментов (мкг/мг сырого веса) с использованием стандартных формул и коэффициентов для ДМСО экстрактов и учётом-веса образца, объёма экстракта, длины оптического пути. Полученные данные обрабатывали, применяя двухфакторный дисперсионный анализ. Статистическую достоверность различий между опытными и контрольными растениями оценивали с помощью теста Фишера и показателя наименьшей существенной разницы для p-0,05.

Известно, что сорго относится к растениям с С4 типом фотосинтеза. Однако, содержание зелёных пигментов в нашем эксперименте в условиях засухи было низким и составило в вариантах без нефти для хлорофилла Хл *а* диапазон от 0,850 до 2,117 мкг/мг, а с нефтью от 0,753 до 1,107 мкг/мг; и для Хл *б* от 0,267 до 0,713 без нефти, 0,240 до 0,413 с нефтью. Культивирование сорго по отдельности с грибами или бактериями не вызывало статистически достоверного изменения в накоплении Хл *а* и *б* относительно контроля в вариантах без загрязнения. Значимое увеличение Хл *а* (в 1,24) и *б* (в 1,23) наблюдалось в листьях сорго, выращенных совместно с грибами и бактериями. По соотношению хлорофиллов *а/б* минимальное значение 2,504 мкг/мг установлено для растений, выращенных в нефтезагрязнённой почве, а максимальное для растений с грибами и нефтью 3,342 мкг/мг. Величина соотношения *а/б* у растений с бактериями составила 3,14 мкг/мг как без загрязнения, так и с нефтью.

По накоплению каротиноидов растения разделились на две статистически различимые группы. В первую вошли все варианты с нефтью диапазон 0,293 - 0,423 мкг/мг, во вторую - чистый контроль и растения с грибами и бактериями, как по отдельности, так и вместе 0,593 - 0,670 мкг/мг. Количество Кар во всех вариантах коррелировало с количеством Хл. Растения не реагировали на загрязнения увеличением содержания Кар при снижении или постоянстве концентрации хлорофиллов. По величине соотношения общего Хл к Кар *а+б/х+с* выделено три группы. В первую вошли все варианты с нефтью, включая контроль, не зависимо от типа обработки растений, 1,507-2,095 мкг/мг; во вторую – чистый контроль и растения с бактериями 2,323-2,906 мкг/мг; в третью растения только с грибами и грибами с бактериями совместно 3,134-3,192 мкг/мг.

Определение доли Хл в светособирающих комплексах (ССК) показало, что нефтяное загрязнение достоверно увеличивало долю Хл в ССК до 63% против не загрязнённого контроля 56%. Повышение содержания Хл, необходимого для поглощения энергии света, наблюдалось также в варианте с загрязнением и азоспириллой, и составило 60%. Наличие грибов в нефтезагрязнённой почве значительно снижало долю Хл в ССК до 51%.

Таким образом, нами выявлены некоторые различия в содержании и соотношении фотосинтетических пигментов. Показано, что нефть сдвигает соотношение разных форм хлорофиллов, увеличивая долю Хл *б* в общем пуле, и повышая тем самым долю хлорофиллов в ССК. Показана роль высших грибов и бактерий в нивелировании этих процессов и увеличении содержания Хл *а*, передающего энергию непосредственно в реакционный центр растительных фотосистем.

Полученные данные важны для понимания физиологических особенностей, происходящих в растениях во время нефтяного загрязнения в условиях засушливого климата, и непосредственно влияющих на продуктивность. А также помогают оценить влияние бактерий и грибов на происходящие процессы.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-29-05062.

Физиолого-биохимические особенности ризо- и эмбриогенных каллусов, полученных при культивировании изолированных пыльников озимой пшеницы сорта Иркутская

***Любушкина И.В.*[*,**], Поморцев А.В.*[*], Полякова М.С.*[*], Кириченко К.А.*[*], Арбузова Г.А.*[*,**], Дударева Л.В.*[*], Войников В.К.*[*]**

[*] Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН. Лермонтова ул., 132, Иркутск, Россия;
[**] Иркутский государственный университет. Сухэ-Батора ул., 5, Иркутск, Россия.
ostrov1873@yandex.ru

Индуцированный андрогенез – одно из важнейших направлений современной биотехнологии растений, направленное на получение дигаплоидных линий у разных видов и сортов сельскохозяйственных растений. Особенностью данного метода является переключение развития микроспор с гаметофитного пути на спорофитный, для чего они подвергаются стрессовому воздействию и помещаются на специальные питательные среды. Предпочтительный результатом является первичный эмбриоидогенез, однако образовавшиеся в культуре микроспор и пыльников каллусы также могут быть использованы для получения эмбриоидов. У некоторых культур высока частота перехода каллусов к ризогенезу, что исключает в дальнейшем возможность образования растений-регенерантов. В связи с этим в данной работе было проведено сравнение дыхательного метаболизма, жирнокислотного состава и содержания некоторых гормонов в тканях ризо- и эмбриогенных каллусов, полученных в культуре изолированных пыльников озимой пшеницы сорта Иркутская. Донорные растения выращивали в осенне-зимний период на станции искусственного климата (фитотрон) СИФИБР СО РАН, в весенне-летний период – на экспериментальном участке Заларинского агроэкологического стационара (деревня Тунгуй). Отбор растительного материала проводили на стадии трубкования, после чего срезанные трубки помещали в воду и подвергали холодовой предобработке в климатических камерах BINDER при 4 °С в темноте в течение 7-10 суток. Изолированные пыльники помещали на модифицированную среду N_6, содержащую сахарозу (90 г/л), глицин (2 мг/л), аскорбиновую кислоту (1 мг/л), НУК (1 мг/л) и 2,4-Д (1 мг/л), и культивировали в темноте при температуре 26 ºС в течение 4 недель до появления каллусов и эмбриоподобных структур. Затем каллусы переносили на среду для регенерации 190-2Cu без регуляторов роста и помещали в темноту при 4 ºС на 5 суток, после чего перемещали под непрерывное освещение при 22-24 ºС на 6-8 недель. В работе установлено, что дыхание ризогенных каллусов было почти в 2 раза выше, чем дыхание эмбриогенных каллусов, что было обусловлено высокой активностью цитохромного пути дыхания. При этом значимых различий в содержании водорастворимых углеводов в тканях ризо- и эмбригенных каллусов не отмечалось. Сравнение жирнокислотного состава ризо- и эмбриогенных каллусов показало, что ризогенные каллусы, полученные при культивировании изолированных пыльников озимой пшеницы, отличались от эмбриогенных каллусов повышенным содержанием насыщенных жирных кислот, в том числе выполняющих регуляторные функции пентадекановой и гептадекановой. В то же время содержание практически всех ненасыщенных жирных кислот, за исключением линолевой, в тканях ризогенных каллусов было ниже, чем в тканях эмбриогенных каллусов. Гормональный статус изученных двух групп каллусов также значительно отличался. Так, у ризогенных каллусов отмечалось более высокое содержание индол-3-уксусной, абсцизовой и салицилловой кислот. Таким образом, можно заключить, что ризогенные каллусы характеризовались высокой интенсивностью метаболизма, в том числе окислительных процессов, и повышенным содержанием многих гормонов, что, вероятно, и служило причиной их перехода к ризогенезу.

Авторы выражают глубокую признательность ведущему технологу лаборатории физико-химических методов исследований СИФИБР СО РАН Соколовой Н.А. за неоценимую помощь в проведении анализа содержания растительных гормонов.

Работа выполнена с использованием коллекций ЦКП «Биоресурсный центр» и оборудования ЦКП «Биоаналитика» Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках проекта №20-34-80003 мол_эв_а.

Влияние микромицета *Phialocephala fortinii* (Wang & Wilcox) на рост и накопление фосфора растениями клюквы крупноплодной

***Михеев В.С.*[*], *Агеева М.Н.*[*,**], *Березина Е.В.*[*], *Брилкина А.А.*[*], *Стручкова И.В.*[*]

[*] Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, пр. Гагарина, 23, Нижний Новгород, Россия;
[**] ООО «Микофит», ул. Интернациональная, 56б-7, г. Бор, Нижегородская обл., Россия.
m896251074562gmail.com

Взаимовыгодные отношения между растениями и грибами играют важную роль в развитии природных сообществ. Микромицеты обеспечивают минеральное питание растений и способствуют их активному росту. Особое значение взаимодействие с микроскопическими грибами имеет для растений семейства Вересковые, произрастающих на олиготрофных почвах. При этом многие механизмы взаимодействия вересковых растений и их грибных эндофитов до конца не раскрыты. Одними из эндофитов, широко распространенных в корнях вересковых, являются грибы видового комплекса *Phialocephala fortinii* s.l. – *Acephala applanata*. В то же время спектр изолятов грибов этого комплекса с доказанной эффективностью невелик, а их биохимический потенциал слабо исследован. В данной работе исследовалась способность изолята *Phialocephala fortinii* гидролизовать органические фосфаты почвы, изменять морфометрические показатели растений и способствовать накоплению фосфора хозяином – клюквой крупноплодной (*Vaccinium macrocarpon* Ait.).

Изоляты *P. fortinii* получали из тонких волосовидных корней брусники, для чего фрагменты корней стерилизовали в 37% растворе перекиси водорода и затем помещали на плотную питательную среду. После развития на среде разнообразных по морфологии грибов выбирали колонии, соответствующие по характеристикам группе темных септированных эндофитов. Видовую принадлежность определяли с помощью секвенирования ITS-регионов ДНК (ФГБНУ ЦКП «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии»).

Способность грибов гидролизовать органические фосфаты почвы доказывали, определяя еженедельно фитазную активность в культуральной жидкости в течение 28 суток роста при pH реакционной среды 4,5. За единицу удельной активности фитазы (U) принимали количество мкг фосфора, высвобождаемого ферментом из фитата натрия за 1 минуту в расчете на 1 мг белка. Концентрацию фосфат-ионов определяли спектрофотометрически по методу Грайнера с помощью рабочего реактива, содержащего молибдат аммония, серную кислоту и ацетон, измеряя интенсивность развивающейся окраски при длине волны 355 нм. Максимальная активность фосфатсолюбилизирующих ферментов наблюдалась у *P. fortinii* – на 21 сутки и составляла 6,91 U.

В эксперименте по сокультивированию использовали чистые культуры грибов, поддерживаемые на картофельно-декстрозном агаре. Подселение гриба проводили к размноженным *in vitro* стерильным растениям клюквы крупноплодной возрастом 2 месяца. Растения высаживали в пластиковые емкости, заполненные слоем торфяного грунта толщиной 6 см (35 г), В опытном варианте в толщу грунта на глубину 1,5 см вносили фрагменты колоний чистой культуры гриба (D=8 мм). В контрольном варианте гриб не вносили. Растения культивировали в течение 6 месяцев, ежемесячно изучая паттерн и степень грибной колонизации корней с помощью светлопольной микроскопии, при окрашивании препаратов трипановым синим. По истечении срока сокультивирования измеряли длину и разветвленность корней и побегов, а также содержание фосфора в корнях и листьях растений по методу Грайнера после “мокрого” озоления по Чернавиной.

Стабильное заселение корневой системы клюквы происходило через 5 месяцев после инокуляции мицелия гриба в грунт. По сравнению с неинфицированным контролем, спустя 6 месяцев сокультивирования с *P. fortinii* у растений: 1) возрастала разветвленность (на 41%) и длина (на 17%) корневой системы, при этом у побегов не увеличивалась ни длина, ни разветвленность; 2) содержание фосфора увеличивалось (в корнях - на 24%, в листьях - на 50%).

Наличие фитазной активности у изолята *P. fortinii* указывает на способность высвобождать фосфор из органических компонентов почвы. Обнаруженное возрастание разветвленности и длины корней подтверждает способность гриба *P. fortinii* изменять архитектуру корневой системы на более эффективную для поступления фосфора в растение. Выявленный эффект *P. fortinii* на разрастание корневой системы, возможно, связан с ИУК-продуцирующей способностью гриба, выявленной нами ранее. Увеличение содержания фосфора в растениях при сокультивировании с *P. fortinii* доказывает способность гриба усиливать усвоение фосфора почвы растениями.

Работа выполнена при финансовой поддержке Фонда содействия инновациям (договор № 3993ГС1/65535),при финансовой поддержке Программы стратегического академического лидерства “Приоритет 2030”.

Ускоренный отбор трансгенных растений люцерны (*Medicago truncatula* L.), продуцирующих куриный гамма-интерферон для применения в ветеринарии.

Окулова Е.С., Бурлаковский М. С., Лутова Л. А., Падкина М. В.

Санкт-Петербургский государственный университет, кафедра генетики и биотехнологии, лаборатория генной и клеточной инженерии растений,Университетская наб., 7/9**,** Санкт-Петербург, Российская Федерация.
elenaok.advert@gmail.com

В лаборатории генной и клеточной инженерии растений кафедры генетики и биотехнологии СПбГУ ранее были получены трансгенные растения табака (*Nicotiana tabacum* L.), продуцирующие бычий гамма-интерферон для применения в ветеринарии. Препараты интерферонов применяют при респираторных и гинекологических инфекциях, заболеваниях ЖКТ, в том числе смешанных — вызванных бактериями и вирусами одновременно; также интерфероны действуют в роли адъювантов, усиливающих иммунный ответ при вакцинации. До 80% стоимости таких препаратов составляют затраты на выделение и очистку целевого вещества; использование в качестве продуцентов съедобных растений позволяет отказаться от этих этапов и серьезно удешевить продукт.
Опыты на культуре клеток быка и лабораторных животных показали, что гамма-интерферон растительного происхождения сохраняет биологическую активность. Тем не менее проявились и недостатки, свойственные как для табака (несъедобность), так и для многих других трансгенных растений-продуцентов (низкий и нестабильный уровень накопления целевого белка; длительный срок отбора чистых линий). В частности, различия в уровне накопления интерферона в растениях были обусловлены различным числом вставок Т-ДНК в разные участки растительного генома. Таким образом, в следующий этап работ по получению растений-продуцентов интерферона курицы, пригодных для промышленного применения, были внесены следующие усовершенствования:
- Использовали растения люцерны (*Medicago truncatula* L.), являющейся кормовой культурой.
- Использовали модифицированные формы куриного интерферона, более устойчивые к протеолитической деградации (делеция в районе С-конца, удаляющая сайты узнавания протеаз).
- Для 5 трансгенных растений-трансформантов, продемонстрировавших присутствие чужеродного гена и его экспрессию, с применением метода «прогулки по геному» SWPOP (Stepwise partially overlapping primer-based PCR) определили сайты интеграции Т-ДНК в растительный геном, выявили количество копий вставки и их ориентацию. Наличие усечённых фрагментов Т-ДНК, многокопийность и кластеры из нескольких вставок могут негативно влиять на уровень и стабильность экспрессии трансгена. Анализ полученных последовательностей помог установить, что лишь в одном растении имеется единичная вставка Т-ДНК (теоретически оптимальная структура для стабильной экспрессии). В двух образцах присутствуют кластер из двух копий Т-ДНК, расположенных одна за другой в ориентации «голова к хвосту». Ещё одно растение содержит кластер из двух вставок, ориентированных «голова к голове». Подобная ориентация может повысить вероятность «замолкания» трансгена. В последнем растении были обнаружены две вставки Т-ДНК в разных хромосомах, что могло бы затруднить отбор гомозигот в следующем поколении с применением классических методов генетического анализа.
- Генотип растения-трансформанта может быть определен как гемизигота: Т-ДНК встраивается только в одну из пары гомологичных хромосом. При самоопылении растений-трансформантов наследование вставки идет согласно закону Менделя, и для создания линии среди потомков необходимо отобрать гомозигот. Идентификация локуса интеграции Т-ДНК в геном растения позволяет подобрать праймеры к участкам растительной ДНК, фланкирующим трансгенную вставку. ПЦР с такими праймерами будут давать идентифицируемый фрагмент только при наличии в образце хотя бы одной немодифицированной хромосомы, так как встраивание значительной по размерам Т-ДНК между сайтами связывания праймеров делает амплификацию невозможной. Таким образом это позволяет отобрать гомозиготных потомков — основателей будущей линии уже в первом гибридном поколении. ПЦР с комбинацией праймеров к геномной ДНК растения и Т-ДНК позволяет идентифицировать потомков конкретного трансформанта, так как амплифицированный фрагмент появляется только в случае присутствия Т-ДНК в заданном участке генома.
Полученные результаты иллюстрируют вероятностную природу агробактериальной трансформации и подчёркивают важность проведения дополнительных молекулярных исследований на ранних этапах отбора трансгенных растений.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в соответствии с соглашением № 075-15-2020-922 от 16.11.2020 о предоставлении гранта в виде субсидии из Федерального бюджета Российской Федерации. Грант предоставлен в рамках государственной поддержки создания и развития Научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего».

Оценка влияния различных концентраций ауксина 2,4-Д на эффективность образования первичного каллуса из зрелых зародышей отечественных сортов ячменя обыкновенного

Подобед М.Ю., Бабина Д.Д., Миценык А.С., Бондаренко Е.В., Волкова П.Ю.

Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии, Киевское шоссе, 109 км, г. Обнинск, Россия.
podobedmyu@gmail.com

Проблема эффективности культивирования однодольных растений *in vitro*, в частности, ячменя обыкновенного (*Hordeum vulgare)*, до сих пор не решена. Получение регенератов осложняется тем, что способность растений к морфогенезу *in vitro* определяется множеством различных факторов: видом и генотипом (сортом) изучаемого объекта; возрастом и типом экспланта; выбором питательной среды и её составом (концентрациями цитокининов и ауксинов, дополнительных вспомогательных веществ); физиологическим состоянием растения-донора. Поэтому существует вероятность, что в любой момент культивирования дедифференциация клеток экспланта может остановиться или может запуститься процесс старения. Остановка в развитии и гибель каллусной ткани может произойти как на этапе образования первичного каллуса или эмбриогенной каллусной культуры, так и на этапе органогенеза (превращения каллусных клеток в апексы стеблей или корней). В связи с этим, адаптация и оптимизация всех ступеней регенерации *H. vulgare* – важный этап перед началом геномного редактирования и получения растений-трансформантов.

Эффективность каллусогенеза оценивали для двух отечественных сортов ячменя обыкновенного: Фокс 1 и Леон (любезно предоставленные ФГБНУ «Аграрный научный центр «Донской»). В качестве эксплантов использовали зрелые зародыши ячменя. Для индукции каллусообразования использовали среду Мурасиге-Скуга с содержанием витаминов, макро- и микроэлементов, с добавлением различных концентраций 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д), сахарозой, L-пролином, 6-бензиламинопурином (6-БАП) и 0,5 % агаром. Семена стерилизовали в 5 % растворе гипохлорита натрия в течение пяти минут, после чего замачивали на 12 часов в дистиллированной воде. Очищенные от кожуры семена стерилизовали в растворе Твин 20 в течение 60 мин, после чего извлекали зрелые зародыши для дальнейших манипуляций. Простерилизованные зрелые зародыши ячменя разрезали вдоль, поделив каждый из зародышей на две одинаковые части. Затем полученные первичные экспланты высаживали на среду для индукции первичного каллуса с различными концентрациями ауксина 2,4-Д (2, 3 и 4 мг/л) и культивировали в течение трех недель в темноте при 25 °С в термостате. После чего пересаживали на среду без добавления 2,4-Д и на среду с половинной концентрацией 2,4-Д от изначальной.

Для сорта Леон наилучшая эффективность каллусогенеза (45 %) наблюдалась при самой низкой из изучаемых концентраций 2,4-Д (2 мг/л). А для сорта Фокс 1 эффективность каллусогенеза была в два раза выше (60 %) при концентрации ауксина 4 мг/л, чем при концентрациях 2 и 3 мг/л. При пассировании каллуса на среду с пониженной в два раза концентрацией 2,4-Д и на среду без добавления 2,4-Д наблюдалось увеличение размеров каллуса для сорта Фокс 1 (4 мг/мл).

Результаты получены при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (Соглашение № 075-15-2021-1068 от 28.09.2021).

Адаптация метаболитных профилей психрофильных микромицетов к дефициту элементов-органогенов в среде

Пожванов Г.А.[*,**,***]***, Ильюшин В.А.***[*]***, Кирцидели И.Ю.***[*]***, Шаварда А.Л.***[*,**]

[*] Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, 197376, ул. проф. Попова, 2, Санкт-Петербург, Россия;
[**] Санкт-Петербургский государственный университет, 199034, Университетская наб., 7/9, Санкт-Петербург, Россия;
[***] Российский государственный педагогический университет им. А.И.Герцена, 191186, наб. р. Мойки, 48, Санкт-Петербург, Россия.
pozhvanov@binran.ru

Микромицеты, изолированные в Арктической зоне, представляют большой интерес как с точки зрения механизмов адаптации к постоянному обитанию при пониженных температурах, так и при реализации адаптационного потенциала в условиях дефицита элементов-органогенов, при техногенном загрязнении субстрата и изменении температурного режима. Изменение трофических условий отражается в динамике метаболитного состояния организмов: выявляются стабильные и лабильные элементы (индивидуальные метаболиты, группы метаболитов, объединенные структурным сходством или общими процессами биогенеза). Исследование выполнено на нескольких видах микромицетов: *Cadaphora antarctica*, *Cosmospora berkeleyanum*, *Pseudogymnoascus pannorum*, изолированных в 2018 году с о. Шпицберген. Микромицеты культивировали в стерильных условиях на жидкой питательной среде (среда Чапека) в условиях развития адаптации к дефициту фосфора, азота и углерода в среде и при контакте с микро- и наночастицами породы отвалов угольных шахт. Метаболиты экстрагировали смесью метанола, хлороформа и воды (5:2:2 об./об.), их ТМС-производные после двухэтапной химической дериватизации анализировали методом газовой хроматографии–масс-спектрометрии на приборах LECO Pegasus 4D и Agilent 6850 GC. Полученные данные после множественного выравнивания, деконволюции и идентификации метаболитов в пакете MS-DIAL с использованием библиотек Golm Metabolome Database и in-house базы данных анализировали методом PLS-DA.

При множественном сравнении (контроль, дефицит среды по углероду, фосфору и азоту, добавление микрочастиц породы) метаболитные профили микромицетов демонстрировали значимые различия на уровне вида, связанные главным образом с содержанием аминокислот, органических кислот и сахаров (оксопролин, аспартат, серин, глутамат; гликолат, пируват, малат; трегалоза, мальтотриоза, фруктозо-6-фосфат, соответственно). Несмотря на это, все исследованные виды микромицетов демонстрировали сходный паттерн участия метаболитов в адаптации к условиям среды, причем наиболее выраженным являлся ответ на присутствие микрочастиц породы отвалов угольных шахт. В таких условиях накапливался оксопролин, глицерол (осмотически-активные вещества), возрастал уровень свободных жирных кислот (пальмитиновая, стеариновая), снижалось относительное содержание аминокислот (аспартат, серин), и в основном снижалось содержание органических кислот (сукцинат, оксоглутарат, пируват). Примечательно, что уровень трисахаридов (трегалоза, мальтотриоза) возрастал при одновременном снижении уровня дисахаридов (сахароза, мальтоза). Среди исследованных в эксперименте элементов-органогенов (углерод, азот, фосфор), дефицит углерода оказывал значимое влияние на метаболитный профиль *Pseudogymnoascus pannorum* (снижение уровней большинства метаболитов, угнетение роста культуры), в то время как реакция *Cadaphora antarctica* и особенно *Cosmospora berkeleyanum* была выражена слабо: изменялся лишь уровень осмотически-активных метаболитов.

Таким образом, культивирование исследованных микромицетов на среде с присутствием микрочастиц породы приводит к интенсификации реакций цикла Кребса, изменению уровней ди-, трисахаридов. Метаболизм психрофильных микромицетов адаптирован, с одной стороны, к низким температурам, что коррелирует с изменением уровня осмотически-активных метаболитов при дефиците углерода в среде, с другой стороны, метаболитная сеть устойчива к дефициту азота и фосфора.

Работа была выполнена при поддержке РЦ «Развитие клеточных и молекулярных технологий» СПбГУ.

Влияние микробиологического биопрепарата на скорость генерации супероксидного анион-радикала у растений *Triticum aestivum* при действии пониженных температур

Пронин А.С., Колмыкова Т.С., Лукаткин А.С.

Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева,
Большевистская ул., 68, Саранск, Россия.
proninbio@gmail.com

Темпы увеличения урожайности сельскохозяйственных культур не позволяют обеспечить население в мире продуктами питания в полном объеме. Огромную роль в этом играют различные биотические и абиотические стрессовые факторы, ограничивающие продуктивность и урожайность сельскохозяйственных культур. Абиотические стрессы, включая засуху, засоление, жару, холод, наводнения и ультрафиолетовое излучение, вызывают потери урожая во всем мире.

В основе повреждающего действия многих неблагоприятных факторов среды на растения лежит возникновение в их клетках окислительного стресса. Окислительный стресс обусловлен нарушением равновесия между образованием активированных форм кислорода (АФК) и уровнем антиоксидантной защиты. Супероксидный анион-радикал ($O_2^{-\cdot}$) является одной из наиболее опасных для клеток растений АФК; скорость его генерации показывает, насколько быстро происходит окисление компонентов клетки и как следствие –разрушение ее мембран. Защита клеток от АФК при неблагоприятных воздействиях главным образом зависит от активности антиоксидантных ферментов, в первую очередь супероксиддисмутазы (СОД), которая снижает концентрацию супероксидного анион-радикала ($O_2^{-\cdot}$), а также аскорбатпероксидазы и каталазы, устраняющих избыток перекисей, образованных СОД в реакции дисмутации $O_2^{-\cdot}$.

Одним из способов преодоления стрессовых воздействий на растения является использование регуляторов роста различной природы, как синтетических, так и натуральных. В последнее время внимание исследователей привлекают биопрепараты на основе живых микроорганизмов, культуральная жидкость (КЖ) которых имеет рост-регулирующую активность. В работе использовали КЖ, полученную при совместном культивировании *Pseudomonas chlororaphis subsp. auerofaciens* B-5326 и дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* Y-4317 с титром клеток 10^{10} КОЕ/мл и разведении водой в соотношение 1:200.

Цель исследования – определить возможность использования микробиологического биопрепарата для снижения повреждения растений и оценки эффективности его влияния на степень окислительного стресса растений озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Мироновская 808 при действии пониженных температур.

Семена подвергали прайминту биопрепаратом в течение 5 минут с дальнейшем высушиванием. Затем обработанный семена (контроль –вода) высаживали по 10 штук в сосуды объемом 1 л семян и выращивали растения в термостатирумых условиях, при 25 °С. В возрасте 23 суток после посева сосуды с растениями помещали в условия температуры 10 или 3 °С на 24 ч. Измерения скорости генерации супероксидного анион радикала осуществляли сразу по окончании низкотемпературного воздействия и спустя 3 дня после него (на 24-й и 27-й день со дня посадки). В основе метода лежит способность супероксидного анион-радикала окислять адреналин в адренохром, который определяли на спектрофотометре UVmini-1249 при длине волны 480 нм. Определения повторяли 3 раза, оценку различий выборочных средних проводили по t-критерию Стьюдента при $P \leq 0,05$ с использованием программ MS Excel и Statistica v.12.

В результате исследования выявлено, что у необработанных биопрепаратом растений (контроль) действие пониженных температур усилило скорость генерации супероксидного анион-радикала, при этом чем ниже была температура, тем выше значение изучаемого показателя. После температуры 10°С скорость генерации $O_2^{-\cdot}$ увеличилась на 65 %, а температуры 3 °С – более чем в 6 раз по сравнению с растениями, выдержанными в условиях оптимальной температуры. Через 3 суток после действия температурного стресса у 27-дневных растений скорость генерации $O_2^{-\cdot}$ была снижена. В последействии температуры 10°С скорость генерации $O_2^{-\cdot}$ снижалась в среднем на 20 % по сравнению с 24-дневными растениями; в последействии более низкой температуры (3°С) скорость генерации $O_2^{-\cdot}$ уменьшена в 4 раза. При этом показатели скорости генерации $O_2^{-\cdot}$ в последействии пониженных температур оставались выше, чем при температуре 25°С – на 43 % в варианте с температурой 10°С и на 66 % в варианте с температурой 3°С.

Предпосевная обработка семян биопрепаратом индуцировала небольшое увеличение скорости генерации $O_2^{-\cdot}$ у растений пшеницы во всех температурных вариантах по сравнению с необработанным контролем: при оптимальной температуре (25 °С) - на 3 % у 24-дневных растений и на 8 % – у 27-дневных растений; при понижении температуры до 10 °С скорость генерации $O_2^{-\cdot}$ была на 12 % ниже, чем у необработанных растений; при температуре 3 °С – в 4 раза по отношению к оптимальной температуре. В последействии стресса у 27-дневных растений показатели скорости генерации $O_2^{-\cdot}$ у обработанных биопрепаратом практически не отличались от неохлажденных растений (после 10 °С) или слегка превышали их уровень (на 5 % в варианте 3 °С).

Таким образом, предпосевная обработка биопрепаратом семян пшеницы 25 °С способствовало снижению генерации супероксидного анион-радикала, индуцированному выдерживанием растений при пониженных температурах. Очевидно, это свидетельствует о том, что прайминг семян биопрепаратом способствовал снижению низкотемпературной интенсификации генерации АФК. Это указывает на перспективность применения биопрепарата для ослабления в растениях тяжести окислительного стресса, вызванного неблагоприятными условиями.

Анализ устойчивости к засухе образцов гороха морфотипа хамелеон

***Соболева Г.В.*[*], *Соболев А.Н.*[**]**

[*]ФГБНУ «Федеральный научный центр зернобобовых и крупяных культур»,
ул. Молодежная, д.10, корп.1, п.Стрелецкий, Орловский район, Орловская область, Россия;
[**]ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С.Тургенева»,
ул. Комсомольская, д.95, Орел, Россия.
alniksobolev@rambler.ru

Урожайность семян у современных сортов гороха зернового направления в настоящее время составляет 3,5-4,5 т/га. Однако при этом существенно снизилась устойчивость к биотическим и абиотическим факторам среды, в частности к засухе. Между тем, в последние десятилетия в основных зонах выращивания гороха в период вегетации растений наблюдается рост температурного фона и увеличивается частота и продолжительность засух. Поэтому селекция гороха должна быть ориентирована на создание сортов, обладающих не только высоким потенциалом урожайности, но и устойчивостью к стрессовым факторам среды, в том числе к засухе. Для решения данных задач селекция гороха направлена на совершенствование морфотипа растений. В этом плане перспективным материалом является оригинальная форма гороха с ярусной гетерофиллией – хамелеон, выделенная в ФГБНУ ФНЦ ЗБК. У этой формы два-три нижних развитых листа обычно имеют два-три листочка и неветвящийся усик. На следующих четырех-пяти узлах лист представлен многократно разветвленными усиками с расположенными на них листочками неправильной формы (усато-листочковые листья). Выше по стеблю на трех-четырех узлах формируются листья с многократно ветвящимися усиками без листочков (усатые листья). В зоне плодоношения располагаются усато-листочковые листья. Интерес к морфотипу хамелеон обусловлен тем, что данная форма гороха обладает высоким биоэнергетическим потенциалом, позволяющим преодолеть достигнутый для традиционных форм предел урожайности в 5-6 т/га.

Цель исследования заключалась в оценке образцов гороха морфотипа хамелеон по показателям устойчивости к засухе. Объектами исследований являлись 9 образцов. Контроль – короткостебельный безлисточковый (усатый) сорт Софья. Результаты исследований показали, что по уровню относительной устойчивости к осмотическому стрессу (всхожесть семян в растворе 15% ПЭГ в процентах к всхожести семян на воде) изученные генотипы значительно различались как между собой, так и с контролем. В целом по группе образцов величина этого показателя изменялась от 48,9% до 93,1%, что позволило провести ранжирование генотипов. В группу слабоустойчивых к осмотическому стрессу вошли образцы - Ягуар, Сибирский-1, Яг-07-643, Амих-99-1132, Wisconsin-9406; среднеустойчивых - Спартак, Орел; высокоустойчивых - Софья-St, ТМ-06-457, X_2-12-90. Установлено, что между уровнем устойчивости и длиной зародышевого корешка существует тесная положительная корреляция (r=0,82). Значимыми показателями, свидетельствующими о способности целых растений противостоять засухе в процессе вегетации, служат водоудерживающая способность и общая оводненность тканей растений. Образцы гороха морфотипа хамелеон характеризовались более высокой (на 6,6-17,8%) водоудерживающей способностью при завядании (6 часов) в сравнении с контролем. Общее содержание воды в тканях растений – интегральный показатель, отражающий не только способность растений удерживать воду, но и работу корневой системы, колебалось от 82,6% до 84,2%. У контроля этот показатель составил 83,0%. Таким образом, показано, что на ранних этапах онтогенеза (всхожесть семян и длина зародышевого корешка) образцы гороха морфотипа хамелеон находятся на уровне контроля или уступают ему, а по водоудерживающей способности и общей оводненности тканей растений в период вегетации превосходят контроль.

Влияние ризосферных бактерий на физиолого морфометрические и биохимические показатели микроклонов картофеля в процесс адаптации в условиях аэропоники

***Ткаченко О.В.*[*], *Евсеева Н.В.*[**], *Денисова А.Ю.*[*], *Каргаполова К.Ю.*[*], *Бурыгин Г.Л.*[*, **], *Куликов А.А.*[*]**

[*] ФГБОУ ВО Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова, Театральная пл., 1, Саратов, Россия;
[**] Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов ФИЦ СНЦ РАН, Энтузиастов, 13, Саратов, Россия.
oktkachenko@yandex.ru

Метод клонального микроразмножения растений *in vitro* позволяет получать необходимое количество оздоровленных микроклонов вегетативно размножаемых растений, в том числе картофеля. Но на этапе высадки микрорастений в естественные условия (*ex vitro*) наблюдается их низкая приживаемость, замедление темпов роста по сравнению с посадочным материалом, произведенным традиционным способом вегетативного размножения. Существенного повышения адаптационного потенциала микроклонов можно добиться путем создания еще на этапе культивирования *in vitro* активно-функционирующих растительно-микробных ассоциаций между микрорастениями и ризосферными стимулирующими рост растений бактериями (PGPR). Это позволяет повысить темпы роста микроклонов, а также ускорить формирование защитныех систем растений к абиотическим и биотическим стрессовым факторам внешней среды. Метод бактеризации относительно недавно начал развиваться и пока не получил широкого распространения в системе семеноводства картофеля.

В производство оздоровленного посадочного материала картофеля на основе культуры апикальных меристем с последующим микрочеренкованием мериклонов в последние годы активно внедряется метод аэропонного доращивания микрорастений до получения мини-клубней. Этот метод позволяет значительно повысить коэффициент размножения и ускорить процесс производства оздоровленных семян. Кроме того, аэропонная технология может применяться для моделирования физиологических процессов адаптации микрорастений картофеля к условиям *ex vitro* в относительно благоприятных условиях.

Целью данного исследования является изучение функционирования растительно-бактериальных ассоциаций при адаптации их к условиям выращивания в условиях аэропоники.

Исследование включает изучение комплекса физиолого-морфологических, гистологических и биохимических признаков микрорастений картофеля двух сортов Невский и Кондор, инокулированных консорциумом штаммов ризосферных бактерий *Azospirillum baldaniorum* Sp245 и *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 на этапе культивирования *in vitro* и в процессе адаптации к условиям *ex vitro* в аэропонной установке «Урожай 9000».

Установлено, что бактерии сохраняются в корнях растений и выявляются методом иммуноферментного анализа и высева КОЕ при выращивании в аэропонной установке, хотя не обнаруживаются в свободном состоянии в питательном растворе. Инокуляция бактериями позволяет смягчить влияние стресса, вызванного переходом микрорастений к условиям *ex vitro*. Это выражается в существенном снижении уровня малонового диальдегида у инокулированных микрорастений по сравнению с контрольными вариантами, а также в изменении активности антиоксидантных ферментов (пероксидазы и каталазы).

Показано, что ризосферные бактерии стимулируют рост микрорастений, в частности формирование корней, в условиях культуры *in vitro*, а также в аэропонной установке, где бактеризованные микрорастения активнее формируют листовой аппарат и переходят к генеративной фазе развития. Содержание фотосинтетических пигментов в листьях в меньшей степени подвержено влиянию бактеризации.

Анализ всех показателей у растений картофеля показывает наличие существенных сортовых различий в реакции на бактеризацию.

Полученные в результате исследования данные позволят повысить эффективность иновационных агробиотехнологий, направленных на переход к высокопродуктивному и экологически чистому семеноводству картофеля.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-26-00087, https://rscf.ru/project/22-26-00087/

Обработка пептидами растительного и грибного происхождения эксплантов и эмбриогенных культур хвойных *in vitro*

Третьякова И.Н.*[*], Пак М.Э.[*], Рогожин Е.А.[**,], Садыкова В.С.[***]**

[*] Институт леса им. В.Н. Сукачева Сибирского отделения Российской академии наук – обособленное подразделение ФИЦ КНЦ СО РАН, 660036, ул. Академгородок 50/28, Красноярск, Россия;
[**] Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, 117997, ул. Миклухо-Маклая, 16/10, Россия;
[***] Научно-исследовательский Институт по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе, Москва, 119021, ул. Большая Пироговская, 11, стр. 1, Россия.
culture@ksc.krasn.ru

Повышение иммунитета клонированных растений может быть достигнуто применением защитных пептидов триходермального и растительного происхождения, которые являются важнейшими эффекторными молекулами иммунной системы растений и животных. Проведена аппликация пептидов растительного (*Elytrigia elongata*, *Taraxacum officinale*) и грибного происхождения (*Trichoderma*) на экспланты и эмбриогенные культуры лиственницы сибирской, сосны сибирской и ели сибирской. Введение в среды пептидов *Taraxacum officinale* оказало стимулирующее влияние на индукцию эмбриогенных культур лиственницы сибирской,и каллусообразование у сосны сибирской и ели сибирской. Проведение опытов по аппликации *Elytrigia elongata* на стадию созревания и прорастания соматических зародышей показало, что у более половины регенерантов лиственницы сибирской происходило образование корней. Такая же стимуляция роста корней у данного вида наблюдалась при обработке пептидами рода *Trichoderma*. Наличие в среде экстракта *Taraxacum officinale* стимулировало рост каллусов, в том числе эмбриогенных, у длительно пролиферирующих культур лиственницы. Таким образом, впервые проведена аппликация защитных пептидов триходермального и растительного происхождения на экспланты, эмбриогенные культуры и регенеранты хвойных в культуре *in vitro*. Проведенные исследования позволят получить экологически чистые, генетически тестированные и быстрорастущие клоны хвойных видов на основе соматического эмбриогенеза.

Работа выполнена в рамках базового проекта ИЛ СО РАН-2021-2025 «Функционально-динамическая индикация биоразнообразия лесов Сибири» № 0356-2021-0009 и при частичной финансовой поддержке Российского научного фонда, Правительства Красноярского края, Красноярского краевого фонда поддержки научной и научно-технической деятельности в рамках научного проекта № 22-14-20008.

Способы культивирования *Arabidopsis thaliana* в лабораторных условиях

Фридман В.А., Фадеев В.С., Тюрин А.А., Демьянчук И.С., Голденкова-Павлова И.В.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Ботаническая ул., 35, Москва, Россия.
VikaFridman@gmail.com

Arabidopsis thaliana является, бесспорно, одним из важнейших модельных организмов в различных областях науки: физиологии растений, биологии развития, генетической инженерии и многих других. Несомненными преимуществами арабидопсиса являются короткий жизненный цикл, быстрый рост, простота культивирования. Геном этого растения секвенирован, в настоящее время в различных базах имеется множество данных о траскриптоме, протеоме, метаболических путях, мутациях.

Культивирование *Arabidopsis thaliana* в лабораторных условиях – важный аспект любого исследования с использованием этого растений. Его выращивают в стерильных и нестерильных условиях; на твердых, жидких средах и аэропонике; в климатических камерах, теплицах и на стеллажах в световых комнатах. Выбор способа выращивания зависит от цели исследования, количества и типа необходимого биоматериала.

Целью данной работы является обзор методов культивирования растений арабидопсиса для различных исследований, а также формулирование критериев выбора способа выращивания в зависимости от требуемого биоматериала.

Мы опробовали некоторые описанные в литературных источниках методы культивирования на различных типах сред, что позволяет сделать некоторые важные выводы об оптимизации получения растительного материала в лабораторных условиях.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 121033000137-1).

The research was carried out within the state assignment of Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (theme No. 121033000137-1)

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 22-14-00057).

The research was supported by RSF (project No. 22-14-00057).

Влияние биостимулятора роста из торфа на морфогенез регенерантов *Phalaenopsis hybridum* пелоричной формы в условиях *in vitro*

***Хоцкова Л.В.*[*], Кравец А.В.[**], Омаров Р.С.[***]**

[*] Национальный исследовательский Томский государственный университет, пр. Ленина, 36, Томск, Россия;
[**] Сибирский НИИ сельского хозяйства и торфа – филиал СФНЦА РАН, ул. Гагарина, 2, Томск, Россия;
[***] Санкт-Петербургский государственный университет, Университетская наб., 7-9, Санкт-Петербург, Россия.
lyubava77kh@gmail.com

Одним из альтернативных подходов к проблеме сохранения биологического разнообразия растений является использование метода клонального микроразмножения – массового бесполого размножения растений в культуре клеток и тканей *in vitro*, при котором возникшие формы генетически идентичны исходному экземпляру. Представители рода *Phalaenopsis* Blume (семейство *Orchidaceae* Juss.) являются одними из экономически важных и перспективных объектов цветочной промышленности ряда стран, в том числе и России (импортозамещение). Промышленные гуминовые препараты, полученные из различного органического сырья, имеют стимулирующий эффект на рост и развития растений, что находит широкое применение при выращивании цветочных культур с продолжительным вегетативным периодом, к которым относятся и фаленопсисы, для ускорения перехода их к генеративному этапу развития. В связи с этим, целью наших исследований являлось изучение влияние гуминового препарата из торфа на морфогенез регенерантов *Phalaenopsis hybridum* в условиях *in vitro*. Исследование проводили в Сибирском ботаническом саду Томского государственного университета.

Представители рода *Phalaenopsis* Blume (от греч. *phalaina* – мотылек и *opsis* – подобный), цветки которых внешне напоминают бабочек, являются эпифитными растениями, с моноподиальным типом роста, произрастающие в Юго-Восточной Азии. Высоко декоративны мутантные формы фаленопсисов – «пелорики» (от лат. *pelorik*), которые имеют характерную визуальную особенность цветков (изогнутые вовнутрь петалии). Наше внимание привлек культивар-пелорик *P. hybridum,* выращиваемый в качестве высокодекоративной красивоцветущей горшечной и срезочной культуры. Листья удлиненно-эллиптические, расположены на стебле двумя супротивными рядами, темно-зеленые, мясистые. Соцветие – многоцветковая кисть, от 5 до 9 цветков в соцветии. Цветки средней величины, 5–7см в диаметре, сепалии и петалии зеленовато-желтого цвета с темно-фиолетовыми пятнами разной величины, петалии «нераскрывшейся» формы, губа желто-розового цвета. Данный культивар относится также к группе «новелти», характеризующейся неограниченным сроком жизни цветоносов. Гуминовый препарат «Гумостим» – это щелочной экстракт, полученный гидролизом низинного торфа месторождения «Темное» Томской области смесью аммиачной воды в присутствии окислителя (патент РФ 2213452, производитель Сибирский НИИ сельского хозяйства и торфа – филиал СФНЦА РАН, г. Томск). По рекомендации производителя концентрация для применения «Гумостима» для сельскохозяйственных растений составляет 0,001%. Однако при выращивании орхидей необходимо использовать более низкие концентрации питательных веществ, чем требуется растениям других семейств.

В качестве эксплантов использовали спящие почки цветоносов *P. hybridum*, несущих пелоричные цветки. Срезанные цветоносы разделяли на одноузловые экспланты, которые после стерилизации помещали в культуральные сосуды на твердые питательные среды Мурасиге-Скуга, содержащие активированный уголь, бензиламинопурин в концентрации 0,5 мг/л, с добавлением препарата «Гумостим» в концентрации 0,0001% (опыт) или без него (контроль). Культуры содержались на белом свету люминесцентных ламп PHILIPS с интенсивностью освещения 3 клк, температурой воздуха 23±2°С и влажность воздуха 65–70%. Пересадки на свежие питательные среды осуществляли каждые два месяца. Через год культивирования, перед изъятием растений из стерильных условий, измеряли ростовые параметры регенерантов. Статистический анализ данных был проведен с помощью пакета MS Excel 2007. Данные представлены в виде средней арифметической ± стандартная ошибка. Статистическую значимость различий показателей опытной группы растений по сравнению с контролем определяли t-тестом Стьюдента при уровне значимости $p \leq 0,01$.

Наблюдения за растениями *P. hybridum* в период эксперимента показали, что экземпляры опытной группы заметно отличались от контрольной группы общим внешним состоянием: их листья имели более крупные размеры и насыщенный зеленый цвет. Добавление «Гумостима» в питательные среды достоверно ($p \leq 0,01$) увеличивает количество листьев на растении с 2,9±0,23 штуки (контроль) до 4,6±0,27 штук (опыт), при этом длина листа увеличивается с 2,8±0,12 см в контроле до 4,4±0,23 см в опыте. Такая же закономерность прослеживается и в отношении ростовых показателей корней: наблюдается достоверное ($p \leq 0,01$) увеличение по длине корня от 3,3±0,15 см в контроле до 4,9±0,29 см у опытных вариантов, по числу корней – от 2,8±0,20 штук (контроль) до 5,0±0,21 штук (опыт). Регенеранты, выращенные на питательных средах с добавлением «Гумостима», после пересадки в нестерильные условия, быстрее вступали в фазу генеративного развития, в среднем, на 6 месяцев раньше, чем контрольная группа. Зацветали регенеранты на третий год с момента введения в культуру *in vitro*, цветки имели признаки «пелоричности» и повторяли окраску материнского образца.

Таким образом, было изучено влияние гуминового препарата из торфа «Гумостим» на рост и развитие регенерантов *P. hybridum* с проявлениями «пелоричности» и установлен его достоверно стимулирующий эффект. Использованный технологический прием позволяет ускорить рост и развитие *P. hybridum* и раньше получать цветущие растения, пригодные для реализации.

Влияние условий произрастания на накопление кумарина в *Melilotus officinalis* L.

Хуснетдинова Л.З., Дубровная С.А.

Казанский федеральный университет, Кремлевская ул., 18, Казань, Россия.
husnetdinova.l@mail.ru

Оценка ресурсов лекарственных растений имеет большое значение с целью выяснения перспектив промышленной заготовки лекарственного растительного сырья. Донник лекарственный (*Melilotus officinalis* L.) – двухлетнее лекарственное растение семейства Fabaceae, широко используется как в народной, так и в традиционной медицине. Лекарственным сырьем является трава. Биологически активные вещества травы *M. officinalis* обладают разнообразными видами фармакологической активности: противовоспалительным, венотонизирующим, анальгезирующим, фибринолитическим, антикоагулянтным, спазмолитическим, а также мягчительным, раздражающим и отвлекающим действием. Трава содержит эфирное масло, сапонины, полисахариды и другие вещества, но наиболее значимым биологически активным веществом является кумарин (0,4-0,9 %), играющий ключевую роль в фармацевтической и пищевой промышленности.

На территории Республики Татарстан *M. officinalis* является типичным растением нарушенных местообитаний, встречается на лугах, различного режима увлажнения.

Образцы *M. officinalis* были собраны в разных районах Республики Татарстан – Дрожжановском, Зеленодольском, Бавлинском, Верхнеуслонском и Лаишевском. Известно, что условия произрастания могут существенно повлиять на образование и накопление веществ вторичного метаболизма.

Целью наших исследований было сравнительное изучение содержания кумарина в различных вегетативных органах лекарственного растения официальной медицины *M. officinalis*.

Растения были высушены методом воздушно-теневой сушки. Для определения кумарина были выбраны различные части побега (соцветия, листья, стебли). Количественный анализ содержания кумаринов определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

В ходе экспериментального исследования установлено, что наибольшая концентрация кумаринов содержится в соцветиях в *M. officinalis*.

Показано, что растения собранные в различных экологических условиях, отличаются уровнем содержания кумаринов. Наибольшее суммарное количество кумаринов во всех исследуемых образцах *M. officinalis* отмечено в Верхнеуслонском районе в ценопопуляции экотонного сообщества, расположенного между широколиственным лесом и проселочной дорогой на высоком уровне инсоляции. Наименьшее количество отмечается на участке восстановленной пашни в Лаишевском районе, при высокой конкуренции с другими рудеральными видами, доля которых в травостое составила более 30 %.

Таким образом, эколого-ценотические условия местообитания влияют на накопление кумаринов в природных популяциях *M. officinalis.*

Биоминералы плодов растений рода *Lithospermum*

***Чаженгина С.Ю.*[*], *Икконен Е.Н.*[**], *Николаева Н.Н.*[***], *Прокопович П.Ф.*[*]**

[*] Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт геологии Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия;
[**] Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия;
[***] Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт леса Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, Россия.
chazhengina@mail.ru

Несмотря на то, что минералообразование в растениях является распространенным процессом, на сегодняшний день механизмы формирования минералов, их идентификация, свойства и физиологическая роль недостаточно освещены. Более полное понимание роли, которую минералы выполняют в растении, а также процессов и условий, сопровождающих образование биоминералов, может расширить наши знания о защитных механизмах растений к ряду факторов, к таким, например, как, патогены, травоядные организмы, избыток металлов в почве и другое. Триба воробейниковых *Lithospermeae* семейства бурачниковых Boraginaceae включает многочисленный род воробейник *Lithospermum*, широко распространенный по земному шару и характеризующийся высокой экологической пластичностью. В состав перикарпия эрем *Lithospermum* входят минерализованные клетки, образующие твердую оболочку. Задачей данной работы являлась идентификация минералов, а также изучение их распределения в перикарпии эремов трех видов *Lithospermum*: воробейника полевого (*L. arvense* (LITAR) *Buglossoides arvensis*), воробейника лекарственного (*L. officinale* L.) и воробейника пурпурно-голубого (*L. purpurocaeruleum* L.). Сбор осуществляли в Краснодарском крае в фазу полной зрелости плодов. Для микроморфологического и минерального анализа эрем, а также определения элементного состава минералов использовали сканирующий электронный микроскоп с энергодисперсионным микроанализатором.

Эремы исследованных видов имели морфологически различные формы, размеры и текстуру поверхности. В отличие от многолетних видов (воробейник лекарственный и воробейник пурпурно-голубой), эремы однолетнего воробейника (воробейник полевой) имели меньший размер, менее округлую, удлиненно-яйцевидную форму с заостренной вершиной и шероховатую поверхность. Исследование срезов перикарпия эрем методами микрозондового анализа и рамановской спектроскопии выявили наличие в перикарпии эрем двух минеральных фаз: оксида кремния (SiO_2, аморфный кремнезем) и карбоната кальция ($CaCO_2$, кальцит). Сканирующая микроскопия выявила неравномерность распределения биоминералов в перикарпии эрема независимо от вида растений. Тогда как аморфный кремнезем был установлен в основном в клетках экзокарпия, клетки мезокарпия минерализировались с образованием каброната. Окремневевшие клетки были плотно упакованы в слое экзокарпия, что обеспечивает твердость и устойчивость перикарпия эрема к внешним воздействиям. При этом внешний окремневевший слой экзокарпия не был представлен по всей поверхности эрема, а прерывался в области цикартикса, сложенного клетками, минерализованными карбонатом. Клетки скеренхимы мезокарпия, заполненные $CaCO_2$, были более разрежены, чем клетки экзокарпия. Помимо органических соединений межклеточное пространство мезокарпия содержало SiO_2 и Ca. Во внутреннем слое эндокарпия клетки, ориентированные вдоль стенки околоплодника, были заполнены как кремнеземом, так и кальцитом.

Таким образом, результаты выявили единообразие представленных минеральных фаз среди трех исследованных представителей *Lithospermum*. Несмотря на различие форм и размеров эремов, перикарпий плодов всех трех видов содержал клетки, минерализованные аморфным кремнеземом и кальцитом, распределение которых в перикарпии мало различалось между видами. Можно предположить, что физиологическая роль биоминерализации эремов *Lithospermeae* заключается в защите зародыша от действия неблагоприятных факторов и сохранении его до оптимальных условий прорастания. Однако, данное предположение требует подтверждения. Минеральная фаза перикарпия позволяет сохранять целостность эрема длительное время, что подтверждается их обнаружением на археологических объектах и может быть использовано для палеоклиматических реконструкций. Для большего понимания физиологической роли биоминерализации в растениях, в частности трибы *Lithospermeae* семейства Boraginaceae, а также возможности использования данной особенности растений в реконструкциях палеоклимата, необходимы дальнейшие исследования механизмов формирования минералов, выявление связи минералообразования с основными физиологическими процессами растений, оценка химических, а также определение вариабельности их свойств в зависимости от почвенно-климатических условий роста растений. Особый интерес представляет исследование физико-химических свойств аморфного кремнезема плодов растений рода *Lithospermeae*, так как биогенный кремнезем является перспективным сырьем для применения в различных отраслях промышленности в качестве абсорбента, а также компонента лекарственных препаратов, огнеупорных и строительных материалов, новых сплавов и уникальных покрытий в машиностроении.

Влияние доз азота и бора на накопление L-аргинина в хвое сосны обыкновенной

***Чернобровкина Н.П.*[*], *Робонен Е.В.*[*], *Ахметова Г.В.*[*], *Никерова К.М.*[*], *Пеккоев А.Н.*[*], *Зайцева М.И.*[**], *Колесников Г.Н.*[**].**

[*] Институт леса – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук», ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Россия;
[**] Петрозаводский государственный университет, пр. Ленина, 33, Петрозаводск, Россия.
chernobrovkina50@bk.ru

Разработка технологий модификации биохимического состава древесной зелени хвойных с получением растительного сырья, обогащенного необходимыми для практических целей биологически активными веществами, является перспективной для использования новых сырьевых источников. Водорастворимая фракция древесной зелени хвойных содержит в своем составе свободные аминокислоты, в частности L-аргинин (Arg), используемый в производстве нутриентных и фармацевтических продуктов.

Многократное повышение содержания Arg в хвое наблюдали при высоком уровне азотного питания, являющегося результатом хозяйственной деятельности или искусственно формируемого в экспериментах по минеральному питанию хвойных. Внесение борных удобрений значительно усиливало эффект. Предлагается использовать выявленную закономерность для получения обогащенной Arg древесной зелени. Разработана оригинальная схема обеспечения хвойных растений азотом и бором с целью получения растительного сырья для производства Arg содержащих хвойных препаратов. Испытания хвойной муки и водного хвойного экстракта из обогащенной Arg хвои, проведенные на пушных зверях и сельскохозяйственной птице, дали положительные результаты. Повышались продуктивность и иммунный статус животных.

Установлено, что внесение азота и бора под сосну обыкновенную (*Pinus sylvestris* L.) во все сроки вегетационного периода является эффективным в целях получения обогащенной Arg хвои в течение годичного цикла. Наибольший эффект наблюдали при внесении удобрений в июне, а максимальное накопление его отмечалось в хвое текущего года в годичной динамике в сентябре года внесения удобрений и феврале-марте следующего года. Определение эффективных и экономически рациональных доз внесения удобрений необходимо для оптимизации технологии обогащения хвойных растений Arg. Целью данной работы было определение влияния внесения в почву азота в широком диапазоне доз на фоне трех фиксированных уровней бора на накопление Arg в однолетней хвое сосны обыкновенной.

Определяли влияние внесения в почву азота и бора на накопление этих элементов и свободного Arg в однолетней хвое 16-летних деревьев сосны обыкновенной, произрастающей в условиях южной Карелии в сентябре года внесения удобрений и в марте следующего года. В первой декаде июня вносили в почву дозы азота от 0 до 1000 кг га$^{-1}$ и бора от 0 до 6 кг га$^{-1}$соответственно в форме NH_4NO_3 и H_3BO_3. В сентябре максимально уровень азота в хвое повышался до 3.6% (здесь и далее – от сухого веса) при увеличении доз азота до 500 кг га$^{-1}$ и дозе бора 3 кг га$^{-1}$. Бор стимулировал поступление азота в хвою при внесении в почву азота в дозах 200-500 кг га$^{-1}$ и бора в дозе 3 кг га$^{-1}$. Отсутствие стимулирующего влияния бора, даже при оптимальной дозе его внесения, на поступление азота в хвою при дозах азота 600 кг га$^{-1}$ и более высоких, обусловлено негативным влиянием избытка азота на функциональную активность древесного организма, особенно корневой системы.

Накопление бора в хвое до 149 и 205 мкг г$^{-1}$ соответственно в вариантах его оптимума и избытка (3 и 6 кг га$^{-1}$) при дозе азота 200 кг га$^{-1}$, обусловлено интенсификацией поступления бора в надземную часть растения в связи со стимуляцией функциональной активности при этом уровне обеспечения азотом. При повышении дозы азота до 300 кг га$^{-1}$ и выше на фоне оптимума бора и до 400 кг га$^{-1}$ и выше при избытке бора наблюдали снижение содержания бора в хвое, обусловленное закреплением бора в почве при высоком уровне аммония. При низком уровне бора в почве изменения его содержания в хвое под воздействием различных доз азота не происходило.

Максимально содержание Arg в хвое повышалось до 144 мкмоль г$^{-1}$ в сентябре и до 176 мкмоль г$^{-1}$ в марте при внесении азота в диапазоне доз от 200 до 500 кг га$^{-1}$ и бора в дозе 3 кг га$^{-1}$. При этих дозах азота и бора их содержание в хвое в сентябре составляло соответственно 3.1-3.6% и 70-149 мкг г$^{-1}$. При внесении более высоких доз азота в условиях оптимума бора содержание Arg в хвое снижалось по сравнению с максимальным значением, а при первой дозе азота было близким к его уровню в контроле. В сентябре и марте в условиях высокого обеспечения азотом (при дозах 200-500 кг га$^{-1}$) при оптимальной дозе бора (3 кг га$^{-1}$) содержание Arg в хвое было выше, чем при дефиците бора, что свидетельствует о стимулирующем влиянии бора на синтез аминокислоты в хвое.

Полученные результаты позволяют оптимизировать технологию обогащения Arg хвои сосны обыкновенной путем регуляции доз внесения азота и бора. Несмотря на то, что максимальное накопление Arg в хвое происходило при дозах азота и бора соответственно 500 и 3 кг га$^{-1}$, можно снизить дозу азота до 300 кг га$^{-1}$, чтобы обеспечить значительное повышение содержания Arg в хвое при минимальных затратах удобрений и минимальном воздействии азотных удобрений на окружающую среду.

Влияние биопрепаратов из высших грибов на растения пшеницы (*Triticum aestivum* L.)

***Шатерников А.Н.*[*], Цивилева О.М.*[*], Евсеева Н.В.*[*], Денисова А.Ю.*[**], Ткаченко О.В.*[**]**

[*] Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ «Саратовский научный центр РАН», проспект Энтузиастов, 13, Саратов, Россия;
[**] ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова», Театральная пл., 1, Саратов, Россия.
tsivileva@ibppm.ru

В практике возделывания сельскохозяйственных культур возрастает применение регуляторов роста растений, или биостимуляторов – средств, способствующих улучшению развития и повышению урожайности растений за счет изменения метаболических процессов, усиления адаптационных свойств растительного организма к неблагоприятным факторам внешней среды. Основой синтетических и природных фитостимуляторов могут быть химические соединения и продукты жизнедеятельности различных организмов соответственно. Значительную часть природных регуляторов роста растений могли бы составить метаболиты высших грибов-базидиомицетов как продуцентов разнообразных биологически активных веществ. Однако потенциально значительный вклад исследования макромицетов в расширение спектра и повышение эффективности использования биостимуляторов не соответствует состоянию изученности вопроса. Данные о фитостимуляторах грибного происхождения в литературе практически отсутствуют.

В настоящей работе проведена оценка влияния препаратов, полученных на основе внеклеточных метаболитов съедобных и/или лекарственных высших грибов - базидиомицетов, на физиолого-морфологические параметры проростков пшеницы.

Исследование ответных реакций растений на действие внеклеточных грибных метаболитов проводили на системах «биопрепарат-пшеница». В качестве изучаемого растения был взят один из самых распространенных сортов сильной яровой пшеницы на Юго-Востоке – Саратовская 29 (*Triticum aestivum lutestens* L.). Зерновки пшеницы для получения этиолированных проростков помещали в термостат (24^{o}C, влажность воздуха – 60 %) и выращивали в течение десяти суток в водном растворе грибного препарата. Контролем в эксперименте служили необработанные растения, выращенные в водной культуре. Морфометрические параметры растений анализировали по завершении опыта. Каждый вариант опыта проводили на 65 - 72 растениях, из которых случайным образом отбирали 30 для оценки следующих параметров проростков пшеницы: средняя длина корня, длина колеоптиля, длина листа и количество корней одного проростка, масса побега и корней. Данные, полученные в результате всех проводимых экспериментов, обрабатывали методом однофакторного и двухфакторного дисперсионного анализа со сравнением частных средних по тесту Дункана с использованием программы AGROS-версия 2.10. В данной работе представлены результаты трех экспериментов, проведенных в 2018-2022 гг.

Активно развивающиеся биотехнологии получения новых наноматериалов предполагают актуальность исследования потенциала высших лекарственных грибов для биосинтеза наноструктурированных композитов как антимикробных средств, лечебных препаратов, препаратов сельскохозяйственного назначения. Конъюгаты с биополимерами грибов способны представлять экологически безопасный и экономически эффективный вариант использования соединений микроэлемента селена (Se) в практике культивирования и защиты растений. Скрининг проводили на 52-х образцах препаратов грибного происхождения, полученных на основе погруженных культур макромицетов - представителей 7 родов, 13 видов, 21 штамма. Использовали также полученные и охарактеризованные нами ранее препараты, Se-биокомпозиты грибного происхождения, содержащие микроэлемент селен в следующих концентрациях: $5{\cdot}10^{-6}$, $5{\cdot}10^{-5}$, $5{\cdot}10^{-4}$ моль/л. После нескольких этапов скрининга были отобраны 13 наиболее эффективных фитостимулирующих препаратов. В ответ на обработку ими проростков пшеницы способом, описанным выше, имело место увеличение длины листа во всех случаях, от 1,34 до 1,56 раза, а также некоторое увеличение длины колеоптиля – от 1,06 до 1,10 раза в сравнении с водными культурами растений. Однако при этом не отмечалось положительных изменений средней длины корня, масса побега и корней повышалась незначительно. Для проведения следующего этапа эксперимента использовали грибные препараты при их более низкой конечной концентрации в среде выращивания проростков пшеницы, от $1{\cdot}10^{-5}$ до $1{\cdot}10^{-7}$ моль/л по селену.

Анализ экспериментальных данных по влиянию препаратов грибного происхождения на проростки пшеницы позволил констатировать, что ответная реакция растений пшеницы, проявляющаяся в положительных изменениях физиолого-морфологических параметров растения, наиболее выражена в случае воздействия препаратов на основе *Ganoderma colossus* SIE1301, *Ganoderma neojaponicum* SIEbidoup, *Grifola umbellata* 1622, *Pleurotus ostreatus* 69, в особенности в случае воздействия селенсодержащих препаратов на основе перечисленных макромицетов при микромолярной концентрации селена в среде выращивания пшеницы. Полученные результаты дают основание оценивать ряд Se-содержащих биопрепаратов из высших грибов в качестве средства, стимулирующего рост и развитие пшеницы.

Работа частично поддержана грантом Российского научного фонда (№ 22-24-00415).

Индукция соматического эмбриогенеза у стланика кедрового (*Pinus Pumila)* в культуре *in vitro*

Шевелева И.С.

ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет», пр. Свободный, 79.г. Красноярск, Красноярский край, Россия.
irik1996sheveleva15@mail.ru

Исследование индукции соматического эмбриогенеза стланика кедрового показало, что на данный процесс оказывают влияние развитие эксплантов введенных в культуру *in vitro* и гормональный состав питательных сред. Полученные результаты показали, что более интенсивная индукция каллусных культур идет на базовой среде *DCR*(Gupta, Durzan, 1985) при снижении концентрации НУК и 6-ВАП. Эмбриогенный каллус пролиферировал во всех обработках, однако каллус не оставался эмбриогенным в течение длительного времени на средах с более высокими концентрациями НУК и 6-ВАП . Кроме того, каллус легко коричневел и вскоре терял свою эмбриогенность. Также на индукцию соматического эмбриогенеза *Pinus pumila* оказывает влияние развитие эксплантов введенных в культуру *in vitro*. Зиготические зародыши от даты сбора 30.07-7.08 являются наиболее перспективным материалом для индукции каллусогенеза *Pinus pumila*. Введение в культуру зиготических зародышей собранных в промежутке 1.07-10.07оказалось неэффективным, частота каллусообразования была равна 0. Введение в культуру эксплантов от 15.07-23.07давало крайне низкую частоту каллусообразования (40%). Проведение цитологического анализа полученных каллусных культур выявил, что на разных по гормональному составу питательных средах присутствуют клетки разных типов. Рыхлые каллусы состоят из удлиненных клеток, достигающих в длину 300,0 ± 3мкм. В плотных каллусах просматриваются изодиаметрические клетки, диаметром 100,0 ± 3мкм. Таким образом, проведенное исследование показало, что дата сбора эксплантов и состав питательных сред значительно влияют на индукцию каллуса *Pinus pumila.* Проведенные исследования позволят более эффективно осуществлять крупномасштабную селекцию кедрового стланика с помощью соматического эмбриогенеза.

Микроспорогенез и образование андроклинных культур у лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.) и лиственницы Гмелина (*Larix gmelinii* Rupr.) *in vitro*

Шемберг А.М., Третьякова И.Н.

Институт леса им. В.Н. Сукачева Сибирского отделения Российской академии наук – обособленное подразделение ФИЦ КНЦ СО РАН, 660036, ул. Академгородок 50/28, Красноярск, Россия.
antonschemberg@gmail.com

Микроспорогенез является одной из наиболее важной фазы развития генеративных органов. растений. У лиственниц, в отличии от других видов хвойных, мейоз начинается осенью и заканчивается весной следующего года. В начале октября клетки археспория обособляются и превращаются в материнские клетки пыльцы. К концу октября материнские клетки пыльцы вступают в профазу I мейоза. Стадию диплотены лиственницы успешно перезимовывают. В конце февраля - начале марта следующего года идут активные мейотические деления. К концу первой декады марта у лиственницы Гмелина (*L. gmelinii*) мейоз заканчивается образованием тетрад. В этот период наблюдается деление микроспороцитов у лиственницы сибирской (*L. sibirica*). Мейоз у данного вида завершается в третьей декаде марта. У лиственницы Гмелина в третьей декаде марта происходит распад тетрад, образование одноклеточной микроспоры и дальнейшее высвобождение микроспор из тетрад. У лиственницы сибирской эта фаза развития наблюдается шестого апреля.

Микроспорофиллы на стадии развития одноклеточной микроспоры лиственницы сибирской и лиственницы Гмелина были введены в культуру *in vitro* (среда MS с содержанием гормонов 2,4-D и 6-BAP в пропорции 2:1 и 2:0,5) для получения андроклинных культур. Через неделю культивирования в тканях наблюдались митозы и шло образование одно- и двухъядерных клеток. Образовывались андроклинные каллусы. Опыты продолжаются.

Работа выполнена в рамках базового проекта ИЛ СО РАН-2021-2025 «Функционально-динамическая индикация биоразнообразия лесов Сибири» № 0356-2021-0009 и при частичной финансовой поддержке Российского научного фонда, Правительства Красноярского края, Красноярского краевого фонда поддержки научной и научно-технической деятельности в рамках научного проекта № 22-14-20008.

Влияние условий проведения клеточной селекции на физиолого-биохимическое состояние каллусной ткани и регенерантов ячменя и овса

Шуплецова О.Н.

Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н.В. Рудницкого,
ул. Ленина, 166а, г. Киров, Россия.
olga.shuplecova@mail.ru

Оценивали физиолого-биохимические параметры каллуса и регенерантов ячменя (*Hordeum vulgare* L.) и овса (*Avena sativa* L.), индуцированных в селективных системах *in vitro* с осмотиком (15 % полиэтиленгликоль), с ионами кадмия (20 мг/л Cd^{2+}) и алюминия (40 мг/л Al^{3+}). Изучали фитогормональный баланс и аминокислотный состав каллусных культур ячменя (сорт Луч) и овса (сорт 2h15), культивируемых на контрольных (без стресса) и селективных средах. У обоих генотипов снижалось относительно контроля общее количество аминокислот на селективных средах в 1,2-1,6 раз при сохранении качественного состава. На средах с алюминием отмечали повышение содержания пролина у овса (в 1,7 раз) и ячменя (в 2,5 раза), тогда как на фоне осмотика и кадмия наблюдали снижение уровня аминокислоты на 15,6 и 24,8% соответственно.

Возрастала доля эндогенных ауксинов в составе фитогормонов при культивировании каллусной ткани на селективных средах с алюминием (у овса в 2,2 раза; ячменя в 1,5) и с кадмием у овса (в 1,7 раз) относительно контрольного варианта. На средах с осмотиком у обоих генотипов снижался уровень цитокининов. Установлено, что каллусы с высокой частотой регенерации (11,5-20,4%) на средах с осмотиком и алюминием, характеризовались повышением (выше контроля в 1,8 раз) уровня эндогенной абсцизовой кислоты (АБК). На средах с кадмием с частотой регенерации каллуса 4,3-7,8% наблюдали снижение АБК относительно контроля в 1,2 раза. Подтверждено влияние эндогенных ауксинов и АБК на жизнеспособность и морфогенетический потенциал каллусной ткани в селективных условиях. Показана возможность использования АБК и пролина в качестве стресс-маркеров исследуемых генотипов в условиях *in vitro*.

В листьях растений-регенерантов R0-поколения, индуцированных в данных селективных системах, в результате отбора *in vitro* в зависимости от селективного агента и исходного генотипа изменялись концентрации АБК (повышение на 15,6-23,3% у регенерантов ячменя и на 11,7- 16,5% у овса) и индолил-3-уксусной кислоты (снижение на 7,4-16,5% и 10,4-14,8 % соответственно). Для регенерантных генотипов отмечено падение относительно исходного генотипа общего количества аминокислот в 1,3-1,8 раз и изменение долевого содержания отдельных аминокислот. Кроме того, растения-регенеранты, полученные в каллусной культуре на селективных средах *in vitro* с алюминием и кадмием, имели наиболее низкое среди исследуемых генотипов проявление симптомов окислительного стресса, тестируемых по интенсивности перекисного окисления липидов, содержанию антоцианов и фотосинтетических пигментов в листьях.

Регенерантные линии (R1 поколения), индуцированные от исходного генотипа (Luly×Conrad)×2867-80 в тех же селективных системах, изучали в условиях вегетационного опыта. Растения выращивали в естественных условиях (pH_{KCl} 5,85), на кислом почвенном фоне (pH_{KCl} 4,75) и с внесением кадмия (5 мг/кг почвы при pH_{KCl} 4,75). Оценивали продуктивные признаки растений, симптомы окислительного стресса и средообразующую активность корневой системы. У растений-регенерантов, полученных в каллусной культуре на селективных средах *in vitro* с алюминием или водным дефицитом, выявлена повышенная способность корневой системы подщелачивать среду в зоне ризосферы (на 0,2–0,5 ед. pH) при выращивании на алюмокислой почве. Кроме того, на провокационных фонах линии ячменя, отобранные в результате клеточной селекции, на средах с алюминием и кадмием, отличались от исходного генотипа и регенерантов, полученных при дефиците влаги, более низкими показателями по накоплению малонового диальдегида, и более высокими по содержанию хлорофиллов и каротиноидов в листьях, семенной продуктивности. Сделан вывод о формировании комплексной устойчивости к токсичности алюминия и кадмия в почве у регенерантов ячменя, полученных в процессе клеточной селекции на средах *in vitro* с любым из этих металлов.

Проводили сравнительный анализ способности этих же генотипов аккумулировать ионы токсичного (Cd) и биофильного (Zn) металлов. Регенерантные генотипы, индуцированные в результате клеточного отбора на устойчивость к кадмию, имели наибольшие адаптационные преимущества к стрессу: выраженные барьерные функции корней, задерживающие поступление кадмия на 93,4%; минимальное накопление токсичных ионов в репродуктивных органах; высокая семенная продуктивность (превосходили исходный генотип по числу зерен и массе зерна с растения на 35,5%), а также нивелирование тормозящего эффекта кадмия на аккумуляцию цинка.

Проведенные исследования могут быть использованы для корректировки схем клеточной селекции с целью получения новых стрессоустойчивых генотипов.

Оценка влияния сверхэкспрессии генов семейства WOX на соматический эмбриогенез.

Яковлева Д.В., Творогова В.Е., Лутова Л.А.

Санкт-Петербургский государственный университет, Университетская наб., 7/9, Санкт-Петербург, Россия.
enginequs@gmail.com

Многие виды растений обладают способностью к регенерации посредством соматического эмбриогенеза (СЭ)**.** Соматический эмбриогенез – это процесс, в ходе которого незиготические клетки формируют эмбрионы, которые проходят через характерные стадии эмбрионального развития, в конечном счёте формируя новое растение. СЭ широко используется в биотехнологии растений как метод размножения растений *in vitro*, находит своё применение в трансформации растений, селекции, производстве искусственных семян. Механизмы генетической регуляции СЭ пока остаются мало изученными. Выявление регуляторов этого процесса необходимо для совершенствования методов получения соматических эмбрионов.

Ранее в наших исследованиях было обнаружено, что сверхэкспрессия генов *MtWOX9-1* и *STENOFOLIA* из семейства транскрипционных факторов *WUSCHEL-RELATED HOMEOBOX*, приводит к увеличению способности к СЭ у *Medicago truncatula*. Мы предположили, что другие гены семейства *WOX M. truncatula* также могут оказывать влияние на СЭ.

Целью данного исследования является поиск новых генов *WOX*, которые могут быть вовлечены в регуляцию СЭ у *M. truncatula*. Мы обнаружили, что гены *MtWOX11* имеют повышенный уровень экспрессии в ходе СЭ, а также в генеративных органах. Анализ способности трансгенных каллусов к образованию соматических эмбрионов позволил предположить, что сверхэкспресия генов *MtWOX11* повышает способность к СЭ. Мы планируем оптимизировать систему трансформации *M. truncatula* и проверить полученные нами данные, а также получить модифицированные растения со сверхэкспрессией этих генов *WOX* и оценить способность таких растений формировать соматические эмбрионы *in vitro*. В случае если будут выявлены особые случаи фенотипического проявления сверхэкспрессии генов *WOX* у растений, система CRISPR/ Cas9 будет использована для инактивации таких генов *WOX* и дальнейшего изучения их функций в ходе СЭ.

Исследование выполнено при поддержке РФФИ (20-016-00124).

Пролиферация соматического эмбриогенеза у сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*) в культуре *in vitro*

Яровицкая В. В., Третьякова И. Н.

Институт леса им. В.Н. Сукачева Сибирского отделения Российской академии наук – обособленное подразделение ФИЦ КНЦ СО РАН, 660036, ул. Академгородок 50/28, Красноярск, Россия.
yarvera@mail.ru

В настоящее время для размножения и селекции сосны обыкновенной наряду с традиционными начинают применять и биотехнологические методы, которые позволяют наиболее полно реализовать потенциал размножения данного растительного организма. Одним из перспективных методов в лесной биотехнологии, позволяющим ускоренно получать посадочный материал основных лесообразующих пород, является соматический эмбриогенез (СЭ). Несмотря на то что для сосны обыкновенной разработаны подробные протоколы для введения в культуру и получения соматических клонов, она, по сравнению с другими представителями рода Pinus, остается трудным для размножения путем СЭ видом.

Объектом исследований служили стабильно-пролиферируюшне клеточные линии сосны обыкновенной., полученные в ходе индукции СЭ изолированные зиготические зародыши на стадии глобулярного зародыша. Сбор посадочного материала осуществляли с июля по август в 20019–2021 гг. Клеточные линии были получены от плюсовых деревьев, произрастающих на территории произрастающих в дендрарии Института леса им. В.Н. Сукачева, пригороде г. Красноярска (микрорайон Академгородок) и стационаре «Погорельский бор» ИЛ СО РАН (38 км от г. Красноярска). Для пролиферации каллуса и образования эмбриональной массы (ЭМ) применяли питательные среды DCR и ½LV и их модификации. Среды дополняли регуляторами роста 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д) – 2 мг/л и 6-бензоаминопурина (6-БАП) – 1 мг/л, мезоинозитом – 100 мг/л, гидролизатом казеина – 500-1000 мг/л, L-глутамином – 500 мг/л, сахарозой 10 г/л и агаром – 7 г/л. В качестве антиоксидантов применяли аскорбиновую кислоту (АК) в концентрации 200 мг/л. Пересадки на свежую питательную среду проводили каждые 2 недели. В качестве регуляторов роста использовали 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д) – 2 мг/л и 6-бензоаминопурина (6-БАП) – 1 мг/л, мезоинозитом – 100 мг/л, гидролизатом казеина – 500-1000 мг/л, L-глутамином – 500 мг/л, сахарозой 10 г/л и агаром – 7 г/л. В качестве антиоксидантов применяли аскорбиновую кислоту (АК) в концентрации 200 мг/л. В среду добавляли агар – 7 г/л; pH среды приводили к 5.8 до автоклавирования, которое проводили при 121°C в течение 20 мин. В охлажденную питательную среду после автоклавирования добавляли L-глутамин и аскорбиновую кислоту. Культуры инкубировались в темноте при температуре 24±1°C. Пересадки на свежую питательную среду проводились каждые 14 суток. Наибольшей способностью к пролиферации обладал каллус, полученный на среде DCR с добавлением 2,4-Д (2 мг/л) и 6-БАП (1 мг/л), у которого через несколько месяца культивирования масса эмбриогенного каллуса составила до 0,474±0,1 г, что почти в три раза превышало массу каллуса на среде ½ LV и на модифицированных средах. При дальнейшем культивировании на среде ½ LV и на модифицированных средах рост каллусов останавливался и они начинали отмирать, и были пересажены на среду DCR.

Работа выполнена в рамках базового проекта ИЛ СО РАН-2021-2025 «Функционально-динамическая индикация биоразнообразия лесов Сибири» № 0356-2021-0009 и при частичной финансовой поддержке Российского научного фонда, Правительства Красноярского края, Красноярского краевого фонда поддержки научной и научно-технической деятельности в рамках научного проекта № 22-14-20008.

Феномика растений

Фенотипирование зерен мягкой пшеницы: подходы на основе анализа цифровых изображений, оценка физиологических свойств и поиск QTL, связанных с характеристиками зерен

***Афонников Д.А.*[*], Комышев Е.Г.*[*], Ариф М.А.Р*[**], Генаев М.А.*[*], Коваль В.С.*[*], Ефимов В.М.*[*], Шмаков Н.А.*[*], Гирке П.У.*[***], Бёрнер А.*[****]

[*] Институт цитологии и генетики СО РАН, пр. ак. Лаврентьева, 10, Новосибирск, Россия; Курчатовский геномный центр ИЦиГ СО РАН, пр. ак. Лаврентьева, 10, Новосибирск, Россия;
[**] Институт ядерных исследований для сельского хозяйства и биологии, Джанг Роад, Файзалабад, Пакистан;
[***] Государственное учреждение сельского хозяйства и садоводства, Центр тестирования и сертификации семян и посадочных материалов, ул. Шипцигер, 29, Галле, Германия;
[****] Институт генетики растений и исследований растениеводства Лейбница, Корренсштрассе, 3, Гатерслебен, Германия.
ada@bionet.nsc.ru

Разработаны методы фенотипирования зерен злаков на основе приложения SeedCounter, реализованного для мобильных устройств на платформе Android и для ПК. Приложение обрабатывает изображения зерен, полученные несколькими протоколами и оценивает 7 характеристик формы/размера зерен и 48 характеристик цвета оболочки зерна. С помощью приложения проведен анализ характеристик зерен для рекомбинантных инбредных линий (РИЛ) мягкой пшеницы (*T. aestivum*) из популяции ITMI (International Triticeae Mapping Initiative): оценено влияние длительности хранения в генбанке на характеристики зерен и связь этих характеристик с всхожестью. Проведен поиск QTL, ассоциированных с характеристиками зерен.

Для 44 РИЛ, выращенных в 4 разных сезона - 2003, 2004, 2009 и 2014 гг. показано, что генотип значимо влияет на изменчивость всех признаков зерен, а год урожая примерно на 3/4 из них (включая все признаки формы и размера). Для выявления тренда между изменением признака зерен и годом урожая мы оценили коэффициенты корреляции между ними и годом урожая. Для признаков формы/размера зерен такой тренд обнаружен не был, а три четверти признаков цвета такой тренд обнаружили. Наиболее значимые отрицательные корреляции между годом урожая выявлены для признаков красноты оболочки зерен: чем больше время хранения, тем более красный оттенок имеют зерна. В то же время показано, что зерна более длительного времени хранения (более ранний год урожая) оказываются и более светлыми.

Анализ линейных корреляций между всхожестью семян пшеницы 19 генотипов и годов урожая и их морфологическими признаками позволил выявить отрицательную линейную связь между красной компонентой цвета оболочки и всхожести: чем краснее зерна, тем ниже их всхожесть. Полученные результаты демонстрируют проявления метаболических изменений в оболочках зерен, связанные с длительным хранением и их связь с уменьшением жизнеспособности семян в результате этого.

На основе анализа 114 линий выявлены 212 аддитивных и 34 пары эпистатических QTL на всех хромосомах генома пшеницы, кроме хромосом 1A и 5D. Многие QTL перекрывались. Мы продемонстрировали, что перекрытие между областями QTL было низким для признаков размера/формы семян и высоким для признаков окраски оболочки. Используя литературу и данные KEGG, мы идентифицировали 29 генов-кандидатов для локусов, связанных с размером семян, и 14 для локусов, связанных с цветом оболочки.

Работа выполнена за счет финансирования Курчатовского геномного центра Федерального исследовательского центра ИЦиГ СО РАН, соглашение с Министерством образования и науки РФ № 075-15-2019-1662.

Исследование механизма влияния генов *OLI5/RPL5A* и *OLI7/RPL5B* на биологию теломер растений *Arabidopsis thaliana*

***Агабекян И.А.*[*], *Валеева Л.Р.*[*], *Абдулкина Л.Р.*[*], *Шакиров Е.В.*[*,**]**

[*] Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Казань, Россия;
[**] Университет Маршалл, Хантингтон, США.

Теломеры представляют собой нуклеопротеиновые концы эукариотических хромосом, которые защищают их от ошибочного распознавания в качестве хромосомных разрывов и прогрессирующего укорочения. Теломерная ДНК состоит из множества коротких нуклеотидных повторов. Известно, что определенное количество теломерных повторов, полученное при рождении, изначально предопределяет способность большинства соматических клеток к пролиферации. Таким образом, начальная длина теломер — это наиболее аккуратный клеточный маркер биологического возраста. Известно, что гены, вовлеченные в биологию теломер, высоко консервативны среди эукариот различных царств, поэтому в качестве модельного объекта изучения теломер мы используем покрытосеменное растение *Arabidopsis thaliana*. Это растение хорошо переносит многочисленные повреждения своего генома, многие из которых являются катастрофическими для других эукариотических систем, таких как дрожжи и позвоночные. Главная задача наших исследований - поиск и анализ генетических факторов, ответственных за установление и регуляцию видоспецифичной длины теломер модельных растений *Arabidopsis thaliana*.

Проведенные нами ранее предварительные эксперименты по изучению длины теломер в рекомбинантной инбредной популяции MAGIC *Arabidopsis thaliana* позволили идентифицировать важный ген-кандидат *OLI2/NOP2A*, контролирующий длину теломер. Ген *OLI2/NOP2A* ранее был также идентифицирован как часть генетического пути *OLIGOCELLULA*. Несколько генов этого пути также участвуют в регуляции длины теломер растений, в частности, гены *OLI5/RPL5A* и *OLI7/RPL5B*. Однако на данный момент механизм работы этих генов до конца не изучен. Для лучшего понимания влияния генов *OLI5/RPL5A* и *OLI7/RPL5B* мы провели дополнительные анализы, позволяющие идентифицировать генетический путь изучаемых генов в теломерном гомеостазе. Для этого мы измерили активности теломеразы у мутантных линий исследуемых генов и дикого типа. Далее мы скрестили мутантные линии по генам *OLI5/RPL5A* и *OLI7/RPL5B* с мутантной линией по гену *OLI2/NOP2A* для анализа генетического взаимодействия этих генов. У полученных гомозиготных двойных мутантов *oli5/rpl5a oli2/nop2a* и *oli7/rpl5b oli2/nop2a* мы провели измерение длины теломер и сравнили с длиной одиночных мутантов.

В результате проведенных исследований мы получили данные о том, что ген *OLI7/RPL5B* влияет на биологию теломер независимо от ранее изученного гена *OLI2/NOP2A*, при этом мутация *oli7-2* приводит к снижению активности теломеразы *in vivo*, а ген *OLI5/RPL5A,* напротив, функционирует в одном генетическом пути с *OLI2/NOP2A* и не влияет на теломеразу клеток.

Исследование выполнено в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030) за счет гранта Российского научного фонда (проект № 21-14-00147).

Выделительные структуры эпидермы *Clinopodium vulgare l.*

Алшиха А., Прохоренко Н. Б.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Кремлевская ул., 18, Казань, Россия.
abdallatif.sh91@gmail.com

В семействе *Lamiaceae* летучие органические компоненты образуются и хранятся в железистых трихомах различного типа и железках, которые могут использоваться в качестве надежных таксономических признаков, а также для определения видовой специфичности лекарственного растительного сырья.
Clinopodium vulgare L. (*Lamiaceae*) – пахучка обыкновенная или дикий базилик – длиннокорневищное травянистое многолетние растение, гемикриптофит, распространение которого связано с регионами Средиземноморья, центральной и восточной Европы, Кавказских гор и Восточной Азии. Основными компонентами эфирного масла *Clinopodium vulgare* выступают b-Кариофиллен, g-Терпинен, гермакрен D, п-Цимен, Тимол. Данный вид имеет разнообразное применение в фармакологии и используется для лечения геморрагической болезни, язвы, диабета, мастита, простатита и воспалений кожи. Современные исследования выявили ряд полезных свойств водных или метанольных экстрактов *C. vulgare*, в том числе противораковых, противовоспалительных, ДНК-защитных, антиоксидантных и антибактериальных свойств.
Анатомические исследования, проведенные в отношении рода *Clinopodium*, ограничены, для *C. vulgare* в литературе имеются единичные сведения.
Цель работы – выявить разнообразие и специфические признаки строения экскреторных структур эпидермы у *Clinopodium vulgare* с помощью световой и флуоресцентной микроскопии.
Исследования проводились на микроскопе ZEISS БИОЛАМ-Л с флуоресцентной насадкой. Для анатомических исследований использовали сухой растительный материал *C. vulgare*, собранный в составе опушечных сообществ подзоны хвойно-широколиственных лесов Среднего Поволжья. Перед изготовлением временных анатомических препаратов сухой материал предварительно размягчали и осветляли в 5% растворе КОН при нагревании до 75 ^{0}C. После чего готовили временные препараты вегетативных органов в глицерине.
Согласно нашим исследованиям в эпидерме вегетативных органов у *Clinopodium vulgare* выявлены 3 типа структур внешней секреции: железистые трихомы, состоящие из одноклеточной яйцевидной головки на одноклеточной ножке, железистые трихомы из одноклеточной головки грушевидной формы на 1-, 2- или 3-клеточной ножке и полусидячие железки с 4-клеточным диском.
Состав и строение экскреторных структур в эпидерме *C. vulgare* имеет определенные особенности в разных органах. По нашим данным эпидерма листьев и стебля содержит как железки, так и железистые трихомы с 1-клеточной головкой на 1-клеточной ножке. Эпидерма чашелистиков включает в себя железки и железистые трихомы с грушевидной головкой на 1-3-клеточной ножке.
Железки входят в состав эпидермы всех вегетативных органов *C. vulgare*: абаксиальной и адаксиальной стороны листа, стебля и чашелистиков. Наибольшее их количество сосредоточено в эпидерме абаксиальной стороны листьев, где на каждый 1 mm^2 поверхности приходится в среднем 5 секреторных железок, и на втором месте в эпидермисе чашелистиков.
Единичное участие железок выявлено в адаксиальной стороны листа. Диаметр диска железок варьирует от 32,5 до 44,7 μm, при этом наибольшие значения этого параметра характерно для абаксиальной стороны листа.
Железистые трихомы с круглой или грушевидной головкой в эпидерме *C. vulgare* встречаются сравнительно редко или единично. Железистые трихомы с грушевидной головкой встречаются только в эпидерме чашелистиков, их длина составляет в среднем 260,6 μm, а диаметр головки – 45,5 μm. Железистые трихомы с одноклеточной круглой головкой на 1-клеточной ножке отмечаются единично в эпидерме стебля и абаксиальной стороны листа. Размеры их сравнительно небольшие: длина составляет 62 μm, а диаметр головки 38 μm.
Полученные результаты позволяют рекомендовать листья как более богатый экскреторными структурами орган как сырье для получения эфирного масла.

Феномика: межвидовая гибридизации дикорастущих растений и нейромоделирование

Богданова Е.С., Розенцвет О.А., Нестеров В.Н.

Самарский федеральный исследовательский центр РАН, Институт экологии Волжского бассейна РАН, ул. Комзина, 10, Тольятти, Россия.
cornales@mail.ru

Феномика-наука, занимающаяся выявлением закономерностей формирования и изменения фенотипов на большом фактологическом материале при помощи неинвазивных методов измерения и биоинформационных подходов. Важнейшим экспериментальным приемом феномики является фенотипирование – сбор и анализ данных от внешних сенсоров о размере, форме, физиолого-биохимических характеристиках организма или популяции. Отличием феномики от классических морфометрических измерений является автоматизация регистрации, хранения и анализа данных, а также использование современных алгоритмов распознавания изображений и работа с крупными массивами данных. В настоящее время большинство исследователей, в качестве инструмента для обработки полученных статистических данных, используют дискретные или биномиальные переменные, как непрерывные переменные с использованием ANOVA. Поэтому для более достоверной интерпретации конечных результатов, проводят множественные сравнительные тесты, чтобы точнее определить, какие из изучаемых факторов оказывают существенное влияние на определенный параметр или процесс. С этой точки зрения искусственные нейронные сети (ИНС) имеют ряд преимуществ перед статистикой: можно совместно обрабатывать разные типы данных (непрерывные, биномиальные, дискретные); простая удобная технология, позволяющая проводить процесс моделирования с ограниченным количеством экспериментов; используются как модули, так и отдельные программные продукты при определении видов, сортов и физиологического состояния растений. Одно из главных преимуществ ИНС перед традиционными алгоритмами – возможность обучения, а также способность успешно решать задачи с большим количеством переменных, не требуя большого количества вычислительных ресурсов. Универсальность ИНС может быть полезна для анализа биологических и биохимических процессов, где во многих случаях трудно определить феноменологические модели, например, при гибридизации растений. Поскольку многие виды растения обладают высокой физиологической пластичностью и большими фенотипическими проявлениями. Обучение модели путем добавления в базу разнообразных, позволит спрогнозировать изменения ключевых физиолого-биохимических параметров на начальных стадиях развития, созданных форм, и может помочь выделить наиболее интересные экземпляры с точки зрения устойчивости разного рода стрессам либо идентифицировать гибридных растений. В настоящей работе с помощью метода ИНС была проанализирована степень родства гибридных видов по отношению к родительским по физиолого-биохимическим параметрам. Объектами исследования были выбраны гибрид *Achillea* × *submicrantha* Tzvelev и его родительские виды *A*. *micrantha* Willd. и *A*. *setacea* Waldst. et Kit. (сем. Asteraceae), а также гибрид *Galium affrenum* (Klokov) Ostapko и его родительские виды *G. octonarium* (Klokov) Soó и *G. Ruthenicum* Willd. (сем. Rubiaceae). Для анализов брали полностью сформировавшиеся листья растений. Обучение нейронной сети (отдельно для *Achillea* и *Galium*) осуществлялось с применением одной из наиболее распространённых архитектур, поочерёдно состоящей из входного слоя (для *Achillea* 10 нейронов, *Galium* – 6 нейронов), скрытых слоев (6 и 10, соответсвенно) и двух выходных слоев. Входной слой состоял из полученных результатов проведенных анализов для каждого вида растений: оводненности листьев, содержания малонового диальдегида, фотоситетических пигментов, общих и индивидуальных фосфо-, глико и нейтральных липидов. Выходные слои те же самые параметры – родительские виды. Создание выборки производилось по характеристикам родительских видов, и определяли сходства/различия между растениями. Расчеты выполняли, используя программы Statgraphics Centurion XVI, IBM SPSS Statistics v. 22, Microsoft Excel 2007. Обученная ИНС сеть продемонстрировала высокое качество распознавания исследованных видов более чем в 80% случаев. Полученные результаты показали, что гибридные растения, отличались от родительских видов, как по липидному, так и пигментному профилю. Однако вид *A*. × *submicrantha* по физиолого-биохимическим параметрам был ближе к родительскому виду *A*. *setacea*. В случае с гибридом *G*. *affrenum* было отмечено, что он занял промежуточное положение между родительскими видами. Представленный в работе подход к исследованию гибридов растений, основанный на выявлении их физиолого-биохимических особенностей, может использоваться для анализа процессов видообразования и прогноза распространения новых видов растений.

Разработка методов анализа фенотипа при помощи искусственных нейронных сетей для исследования физиологических и таксономических характеристик высших растений

Бондаренко В.Ю., Шашко А.Ю., Пржевальская Д.А., Черныш М.А., Демидчик В.В.

Белорусский государственный университет. Пр. Независимости, 4, Минск, Республика Беларусь.
dzemidchyk@bsu.by

В последние годы демонстрируется значительный прогресс в области цифрового высокопроизводительного фенотипирования, что имеет несомненный потенциал для всех областей, связанных с культивированием и изучением растений. Использование наиболее современных подходов, а именно сверточных нейронных сетей, для обработки и анализа феномных данных позволяет получить новую информацию о фенотипе, морфологии и их взаимосвязи с процессами онтогенеза, внешними факторами, характеристиками генома, паттернами экспрессии генов и функционального проявления белков. Целью данной работы являлись разработка и апробация двух классов лабораторных феномных платформ. К перовому относится изучение декоративных видов растений. В данном классе разрабатывались 3 программных компонента для определения сортов и видов (*in vitro*/*ex vitro*), анализа морфофизиологических характеристик растений *in vitro*, и регистрации степени укоренения растений *in vitro* для оптимизации культивирования и изучения влияния тест-агентов. Второй класс платформ применялся к сельскохозяйственным растениям; были разработаны 2 программных компонента для анализа стрессированности растений *ex vitro* и определения патогенов заболеваний растений. Данные компоненты направлены на создание превентивных мер против повреждающих факторов. Для реализации ПО феномных платформ был использован язык программирования Python3, фреймворк TensorFlow и ряд специализированных библиотек для визуализации результатов (Pandas, Matplotlib и др.). Основой компьютерного анализа получаемых результатов являлась модель сверточной нейронной сети InceptionV3. В качестве классификатора использовалась функция активации SoftMax. Для разработки и тестирования моделей нейронных сетей были собраны 5 баз данных: база данных изображений сельскохозяйственных и декоративных растений с различным уровнем стрессированности, культивируемых в условиях открытого грунта; база данных изображений сельскохозяйственных растений, подверженных патогенным заболеваниям; база данных изображений корневых систем различной степени развития у декоративных культур *in virto*; база данных изображений более 40 видов и сортов декоративных растений *in vitro* и *ex vitro*; база данных морфофизиологических характеристик растений *in vitro* и их изображений. Базы данных составлялись по следующему правилу: количество имиджей для тренировки или обучения сверточной нейронной сети – около 72 % от общего количества всех собранных изображений; количество имиджей для валидации – порядка 8 % от общего количества изображений; 20 % для тестирования нейронной сети. Такое соотношение позволяет с высокой точностью оценить качество выполнения нейросетью своей функции. Перед обучением проводилась предобработка изображений: обрезка, изменение формата и аугментация для увеличения объема баз данных. Для программных компонент первого класса, а именно определение сортов/видов, морфофизиологических характеристик и степени укоренения точность 95%, 88% и 95%, соответственно. Для компонентов второго класса: определение патогенов заболеваний растений и стрессированности растений точность составила 86% и 87%. Разработанные платформы позволили использовать результаты их работы для увеличения эффективности выращивания культур *in vitro*, создания превентивных мер для предотвращения распространения патогенов и для проведения массового скрининга как на поиск генов, определяющих ростовые ответы, так и на поиск новых биорегуляторов.

Формирование ядровой древесины – заключительный этап в жизни паренхимных клеток ксилемы

Галибина Н. А., Мощенская Ю. Л., Никерова К. М., Тарелкина Т. В., Мошников С. А., Афошин Н. В., Ершова М. А., Корженевский М. А., Ромашкин И. В., Серкова А. А., Софронова И. Н., Чирва О. В., Гуляева Е. Н., Бородина М. Н., Иванова Д. С., Семенова Л. И.

Институт леса – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук», ул. Пушкина, 11, Петрозаводск, Россия.
galibina@krc.karelia.ru

Ксилогенез (образование древесины) – сложный процесс, включающий деление камбиальных инициалей, их рост растяжением, утолщение клеточной стенки и в случае трахеид, волокон и сосудов – программируемую клеточную смерть (ПКС). Часть ксилемы, которая содержит живые паренхимные клетки с запасными веществами, называется заболонной древесиной (SW). У большинства видов деревьев старения SW сопровождается гибелью клеток лучевой и аксиальной паренхимы, в результате чего образуется физиологически неактивная ядровая (мертвая) древесина (HW). Процесс формирования HW – генетически запрограммирован, сопровождается существенными перестройками в метаболическом статусе клеток паренхимы и химическом составе трахеид, волокон, сосудов. Поддержание соотношения HW/SW на определенном уровне, в зависимости от окружающих условий, регулирует такие процессы, как обеспечение структурной и механической функции ствола, дальний транспорт воды, запасание резервных соединений, энергетические затраты на дыхание живой заболони и баланс между объемом автотрофной и гетеротрофной ткани. Несмотря на долгую историю изучения формирования HW, наши знания о механизмах, регулирующих этот уникальный биологический процесс, ограничены.

Впервые на территории Северо-Запада России у сосны обыкновенной в диапазоне климатических и эдафических условий изучена интенсивность процесса формирования HW в зависимости от возраста дерева и возраста камбия в пределах одного дерева. Мы получили, что камбиальный возраст и количество годичных колец в HW связаны между собой (для разной высоты ствола в пределах одного дерева, для деревьев разного возраста, для разных лесорастительных условий). Из полученных данных следует важный биологический вывод, что образование HW неразрывно связано со старением камбиальных клеток. Мы впервые показали, что ширина транзитной зоны (TZ, зона перехода между SW и HW) у сосны, независимо от возраста дерева, типа лесорастительных условий, величина постоянная: изменение химического состава поровых мембран (ассоциированное с прекращением транспорта воды) и гибель паренхимных клеток происходят в пределах 1-2 соседних годичных колец. В докладе будут рассмотрены изменения в метаболическом статусе паренхимных клеток ксилемы от момента их дифференциации из стволовых клеток камбия до ПКС. В радиальном ряду «камбиальная зона – дифференцирующаяся ксилема – SW – TZ – HW» изучены распределение крахмала, экстрактивных веществ, целлюлозы, лигнина; активности ферментов углеводного и фенольного обмена и уровень экспрессии, кодирующих их генов.

Продолжительность жизни паренхимных клеток ксилемы зависит от возраста камбия и варьирует от 7 лет (10-летний активно делящийся камбий) до 90 лет (160-летний камбий, у которого понижена активность). В докладе будут представлены данные по уровню экспрессии генов *PXY*, *WOX*, являющихся паттерами клеточных делений в камбиальной зоне, и *CLE41/44*, кодирующих низкомолекулярные CLE-пептиды группы B (CLE41, CLE44 и CLE42). Активность сигнального модуля CLE-PXY-WOX будет рассмотрена в зависимости от возраста камбия. Образование HW рассматривают как форму старения тканей и сравнивают с ПКС, которая происходит при формировании из ксилемных производных камбия трахеид. В радиальном ряду «камбиальная зона – дифференцирующаяся ксилема» и «TZ – SW» исследованы активности метакаспазы (MC5), цистеиновой эндопептидазы (CEP) и бифункциональной эндонуклеазы (BFN). В докладе будет приведено сравнение молекулярно-генетических механизмов регулирующих ПКС в ходе формирования проводящих и механических элементов ксилемы и ПКС паренхимных клеток при формировании HW у сосны обыкновенной.

Финансовое обеспечение исследований осуществляется при поддержке РНФ (21-14-00204).

Эколого-физиологические особенности процесса фотосинтеза берёзы плосколистной (*Betula platyphylla*) в Центральной Якутии

Григорьев М.Р., Максимов Т.Х.

Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН
eidosmarat@mail.ru

Эколого-физиологическим особенностям процесса фотосинтеза древесных растений в Сибири посвящено немало работ. К сожалению, исследования по фотосинтезу широколиственных деревьев, а именно березы плосколистной в Южной Якутии, почти не проводились. Имеются лишь данные эпизодических исследований в Центральной Якутии в средне-продуктивном лесу и результаты фитотронных исследований за рубежом.

Для восполнения этого пробела, нами была поставлена следующая цель: исследования – изучение эколого-физиологических особенностей процесса фотосинтеза березы плосколистной (Bétula platyphýlla) в Центральной Якутии.

Полевые работы проводились с 4 июня по 9 сентября 2021 года на лесной научной станции «Спасская Падь» ИБПК СО РАН расположенной на левом берегу р. Лена в 30 км севернее г. Якутск.

Для измерений углекислотных и световых кривых использовался инфракрасный газоанализатор LI-6400 с версией ОС Open 6.1.4 (LI-COR, США), а также LCi-SD (ADC BioScientific Ltd.), для измерения суточного хода фотосинтеза.

Для всех углекислотных кривых березы наблюдался начальный линейный рост до 200-300 ppm, далее шла пологая фаза до 500-600 ppm, после чего наступала фаза насыщения, среднемаксимальная величина ассимиляция составила 16,5 мкмоль $м^{-2}$ $с^{-1}$ (при 1500 ppm CO_2),

Для световых кривых березы, наблюдался линейный рост до 150-200 мкмоль, пологая переходная фаза до 500 мкмоль и далее плато насыщения. В отличие от углекислотных кривых, сезонная градация более-менее выражена – наибольшие величины наблюдались в середине лета, наименьшие – в начале и конце сезона. Паттерн величин в течение сезона позволяет сделать вывод об их общем увеличении с середины июля приблизительно на 23-28%(после начальной фазы линейного роста) по сравнению с началом июня. Среднемаксимальная величина ассимиляции CO_2 составила 8 мкмоль $м^{-2}$ $с^{-1}$

Анализ параметров фотосинтеза салата при выращивании на свету с различным спектральным составом и различными временными режимами освещения

Громова Е.Н., Юдина Л.М., Сухова Е.М., Неруш В.Н., Сухов В.С.

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, пр-т. Гагарина, 23, Нижний Новгород, Россия.
kater333@inbox.ru

В настоящее время агротехнологии направлены на повышение продуктивности растений и их устойчивости к стрессорам. Поиск и поддержание оптимальных режимов освещения растений – одна из ключевых задач при их выращивании в условиях защищенного грунта. Солнечный свет или смешанное освещение (солнечный свет + искусственный свет) в основном используется в теплицах, однако переход на полностью искусственное освещение создает потенциал для оптимизации роста и развития растений при круглогодичном производстве. Цель данной работы являлась оценка влияния выращивания растений салата при различных спектрах света и с различных временных режимах освещения на фотосинтез и продуктивность.

В исследовании использовался салат (*Lactuca sativa* L.) сорта «Азарт», растения выращивали из семян в горшках на кубиках минеральной ваты, по одному растению на горшок. Для выращивания использовали раствор для питания растений Flora Series® (GHE, Франция). Семена проращивали 3 суток без освещения, после этого растения освещали системой светодиодных светильников, разработанной в ФНАЦ ВИМ (г. Москва). Было использовано два варианта освещения: с повышенной интенсивностью красного света, который включал 53% красного света и 7% синего света, и с повышенной интенсивностью синего света, который включал 23% красного света и 34% синего света. Интенсивность белого света была одинакова в обоих вариантах. Спектры света измеряли с помощью спектрометра FLAME-S-VIS-NIR (Ocean Optics, США). Интенсивность обоих вариантов освещения составляла около 180 мкмоль $м^{-2}с^{-1}$; для измерения интенсивности света использовали измеритель оптической мощности Thorlabs PM100D (Thorlabs Inc., США). Для оценки влияния периодичности освещения использовали шесть различных временных режимов освещения растений при культивировании. В контрольных условиях был использован фотопериод свет/темнота – 16 ч/ 8 ч. различные временные режимы освещения с неизменным соотношением общей длительности светового и темнового периода (2:1), что позволяло сохранить общее время освещения в течение суток: 10 с/ 5 с; 6 мин/ 3 мин; 60 мин/ 30 мин. Кроме того, были исследованы варианты с различной длительностью светового дня, включая короткий световой день (8 ч/ 16 ч) и постоянное освещение (24 ч/ 0 ч). Содержание фотосинтетических пигментов оценивали портативным хлорофиллометром CL-01 (Hansatech, Великобритания). Параметры фотосинтеза, дыхания и транспирации измеряли с помощью стандартной системы (Heinz Walz GmbH, Германия), которая включала газоанализатор GFS-3000 и PAM-флуориметр Dual-PAM-100. Прирост биомассы оценивали по общему и сухому весу побега.

Была выявлена высокая эффективность использования освещения с высокой долей красного света для увеличения биомассы салата (сырой и сухой вес). Основным механизмом стимуляции продуктивности салата при таком освещении - низкий уровень темнового дыхания при ограниченных изменениях ассимиляции углекислого газа, что способствует накоплению органических соединений в растениях. Вариант освещения с высокой долей синего света вызывал увеличение содержания фотосинтетических пигментов, кроме того, было показано снижение нециклического и возрастание циклического потоков электронов и связано с изменениями содержания фотосинтетических пигментов в антенном комплексе фотосистемы I.

Проведена оценка различных временных режимов освещения на физиологические процессы. Использование короткого светового цикла, по-видимому, способствовало переходу растения в стрессовый режим (и повышению устойчивости фотосинтетического аппарата), при сохранении достаточно высокого продукционного процесса. Можно предположить, что такой режим может быть эффективен при возникновении биотической или абиотической угрозы, так как будет способствовать повышению устойчивости фотосинтетического аппарата растений. Анализ влияния длительности освещения в рамках суточного светового цикла показал, что такое увеличение приводит к непропорциональному возрастанию накопления общей и сухой биомассы, увеличению фотосинтетической ассимиляции и нециклического потока электронов, снижению циклического потока электронов вокруг фотосистемы I и NPQ. В основе выявленного эффекта лежит, по-видимому, увеличение содержания фотосинтетических пигментов и повышение общей активности усвоения CO_2 при 24-часовом режиме освещения.

Исследование поддержано Министерством науки и высшего образования Российской федерации, грант для поддержки крупных научных проектов по приоритетным направлениям научно-технологического развития, контракт №075-15-2020-774.

Платформы цифрового фенотипирования растений: принципы разработки и особенности применения

Демидчик В.В.

Белорусский государственный университет, пр. Независимости 4, 220030, Минск, Беларусь.
dzemidchyk@bsu.by

Феномика растений – омиксная дисциплина, занимающаяся цифровой регистрацией, глубоким анализом характеристик фенотипа и выявлением закономерностей организации и изменений фенотипов растений на различных стадиях онтогенеза в различных условиях существования. Феномика помогает понять картину реализации генома, связывая молекулярно-генетический анализ со статистически значимым фактологическим материалом о фенотипах. Прогресс в области феномики растений обусловлен развитием цифровых систем регистрации изображений, работающих в разных областях электромагнитного спектра, стандартизацией культивирования объектов, внедрением трехмерных сканеров, сенсорных технологий и робототехники, а также искусственных нейронных сетей. Феномика в ближайшем будущем может создать цифровые модели жизнедеятельности растений на организменном уровне в связи с динамикой транскриптомов, протеомов, метаболомов, показателей продуктивности и пр.. Целью нашей работы является разработка специализированных феномных платформ для автоматизированного фенотипирования декоративных растений и важнейших модельных видов растений (*Arabidopsis thaliana* и др.). В ходе проведенной работы были разработаны следующие специализированные системы/платформы цифрового фенотипирования: (1) Платформа для идентификация видов и сортов декоративных растений на основе нейронной сети. Данная платформа включала в себя систему регистрации и сервер с программой обработки. Созданная система показала высокий уровень точности при сортовидовой идентификации растений, что может быть альтернативой дорогостоящим генетическим анализам. Точность определения сортовидовых характеристик с использованием нейронных сетей была доведена до 95%. Разработано несколько вариантов нейронных сетей, включая версии для открытого грунта, условий *in vitro* и нестерильных лабораторных условий. (2) Платформа для оценки повреждения побегов (уровня физиологической жизнеспособности) в приложении для абиотических и биотических стрессоров. (3) Платформа на основе стационарных вышек для анализа роста и физиологического состояния декоративных растений в питомнике. (4) Платформа для анализа спектрального состава RGB-изображений растений при помощи калиброванных RGB-камер. (5) Платформа для исследования корней растений, культивируемых *in vitro*. (6) Платформа для специализированного анализа поражения древесных растений и их плодов патогенами при помощи нейронной сети.

Идентификация генов, кодирующих транспортеры сахаров в геноме березы повислой методами биоинформатики

Корженевский М. А., Тарелкина Т. В., Галибина Н. А., Мощенская Ю. Л.

Институт леса – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук», ул. Пушкина, 11, Петрозаводск, Россия.

Раскрытие механизмов регуляции ксилогенеза и, следовательно, потенциальная возможность увеличить продуктивность древесных растений, влиять на физико-химические свойства древесины – может иметь высокую экономическую значимость. Дифференциация клеток в камбиальной зоне зависит от количества и состава поступающих ассимилятов. Выделяют три семейства транспортеров, работа которых необходима для внутриклеточного транспорта сахаров: MSTs (моносахаридные транспортеры), SUTs (транспортеры сахарозы) и SWEETs (гексозные и сахарозные транспортеры). Сахара могут оказывать влияние на ксилогенез как косвено – через подачу углерода и энергии, так и напрямую через регуляцию экспрессии генов и активацию ферментов. Среди компонентов сигналинга сахаров выделяют транспортеры сахарозы и гексоз которые наряду с транспортной функцией выполняют еще и сигнальную роль (transceptors).

В качестве объекта исследования мы выбрали растения березы повислой *Betula pendula* Roth. У формы березы повислой – карельской березы (*B. pendula* var. *carelica*), нарушения дифференциациии производных камбия приводят к формированию узорчатой (аномальной) древесины. Деревья карельской березы различаются между собой по моделям развития узорчатой древесины в онтогенезе, в рамках одного ствола могут встречаться «нормальные и аномальные» сценарии роста и развития проводящих тканей. В этой связи, две формы березы совместно могут быть интересным объектом для изучения механизмов ксилогенеза.

Поиск генов семейств *SUT*, *MST* и *SWEET* проводили по геному *B. pendula*, опубликованному в 2019 году. С этой целью были получены аминокислотные последовательности интересующих белков *Arabidopsis thaliana, Populus trichocarpa* из базы данных Phytozome 13, а так же *Vitis vinifera* из базы данных NCBI. Полученные последовательности использовали в качестве поискового запроса по геному *B. pendula* (release 1.2, https://genomevolution.org/coge) для выявления гомологичных последовательностей используя инструмент CoGeBlast. Предсказание структуры белков выполняли с использованием ресурса NCBI (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/cdd.shtml). Филогенетический анализ проводили с помощью программы MEGA 11. Множественное выравнивание интересующих потенциальных белков березы и *Arabidopsis* выполняли с помощью ClustalW, филогенетическое древо строили с использованием метода максимального подобия.

SUTs функционируют как протон-зависимые симпортеры и осуществляют транспорт сахарозы из клеточной стенки и/или вакуоли в цитозоль, они ответственны за перенос углеводов на большие расстояния. Поиск по геному березы повислой выявил 3 гена, кодирующих белковые последовательности, гомологичные SUT других видов (*A. thaliana, P. trichocarpa, V. vinifera*).

Белки семейства SWEET функционируют как унипортеры нейтральных сахаров, таких как сахароза, глюкоза и фруктоза через мембраны по градиенту концентраций из клеток в апопласт либо вакуоль. В отличие от транспортеров сахарозы (SUTs), белки SWEET могут транспортировать глюкозу, не требуя градиента протонов. Предполагают, что эволюция сосудистой системы, связанная с дифференциацией клеток и морфологическими изменениями, сопряжена с увеличением разнообразия SWEET генов. Поиск по геному березы повислой выявил 10 генов, кодирующих белковые последовательности, гомологичные SWEET других видов (*A. thaliana, P. trichocarpa*).

Гены семейства *MST* являются самыми многочисленными, они кодируют белки, участвующие в переносе гексоз, полиолов и инозитола из пространства апопласта либо вакуоли в цитозоль. В геноме березы повислой мы выявили 44 гена, кодирующих белковые последовательности, гомологичные MST других видов (*A. thaliana, V. Vinifera*)

Анализ структуры белков исследуемых семейств показал, что обнаруженные последовательности содержат гомеодомены, типичные для SUT, SWEET и MST. Для всех генов *SUT*, *SWEET* и *MST* была изучена их структура.

На основании проведенного исследования, а также анализа данных транскриптома *B. pendula*, опубликованному в 2019 году мы отобрали 27 траспортеров сахаров для дальнейшего анализа их участия в регуляции камбиальной активности при разных сценариях ксилогенеза у карельской березы и обычной березы повислой.

Площадь, фены и флуктуирующая асимметрия листьев клевера ползучего из ближней зоны ЧАЭС

Макаренко Е.С., Лыченкова М.А., Волкова П.Ю.

Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии, 249032 Россия, Калужская область, г. Обнинск, Киевское шоссе, 109 км, ФГБНУ ВНИИРАЭ.
makarenko_ek_obninsk@mail.ru

Состояние окружающей среды и уровень антропогенного воздействия можно оценить с помощью фенотипических особенностей листьев. Поскольку фенотип является проявлением генотипа организма, методика регистрации частот определенных фенотипов является отражением генетической гетерогенности популяции в тех или иных условиях обитания. В нормальных условиях организм реагирует на воздействие среды посредством сложной физиологической системы буферных гомеостатических механизмов, которые поддерживают оптимальное протекание процессов развития, нарушение которых может быть оценено с помощью индекса флуктуирующей асимметрии. Площадь отдельного листа позволяет оценить его фотосинтетический потенциал и функциональную активность. Клевер очень интенсивно накапливает ^{137}Cs и ^{90}Sr, что делает целесообразным изучение биологических эффектов хронического радиационного воздействия для данного растения.

Целью настоящей работы являлась оценка фенов, флуктуирующей асимметрии и площади листьев у клевера ползучего из ближней зоны Чернобыльской АЭС.

Отбор материала проводили на территории Полесского государственного радиационно-экологического заповедника в Гомельской области Республики Беларусь на 5 участках в 2019 г. и 3 участках 2021 г. Мощность амбиентной дозы (γ) на контрольных участках Ломыш и Бабчин составляла 0,28 мкЗв/ч и 0,29-0,33 мкЗв/ч, соответственно, на импактных участках: Кулажин – 2,20-2,78 мкЗв/ч, Радин – 3,89 мкЗв/ч, Масаны – 2,95-3,8 мкЗв/ч.

Изучали клевер ползучий (*T. repens*) – семейство Бобовые (*Fabaceae*), средняя радиорезистентность. Клевер, благодаря хорошим кормовым качествам, высокой медопродуктивности, неприхотливости, способности улучшать качество почв, обогащая их азотом, является ценной сельскохозяйственной культурой. Листья клевера фотографировали по 36-71 штук с участка. Оценивали площадь листьев, фенотипы, индекс флуктуирующей асимметрии (ФА) листовой пластинки. Площадь листьев измеряли при помощи программного обеспечения Easy Leaf Area (в 2019 г.) и в программе ImageJ (в 2021 г.). Определение фенотипов растений проводили по классификации Brewbaker (1955). Для расчёта ФА проводили промеры в программе Image-Pro Plus, измеряли: длину хорды на среднем и каждом из боковых листочков, длину и ширину супротивных боковых листочков.

По итогам измерения площадь листьев клевера составила от 4,9 до 8,3 см^2 в 2019 г. и от 5,7 до 6,5 см^2 в 2021 г. На участке Кулажин площадь значимо выше обоих контролей (p<0,001) в 2019 г. Различия между участками в 2021 г. не значимы. Видимо, значимо большая площадь листьев клевера на участке Кулажин связана преимущественно с произрастанием данной популяции на плодородном и тенистом участке. При оценке коэффициента корреляции площади листьев от мощности амбиентной дозы в 2021 г. обнаружено высокое значение (r=0,87), которое для n=3 не значимо (p>0,05).

Выявлены разнообразные фенотипы клевера по наличию «седого пятна», соответствующие следующим генотипам: 1 – vv, 2 – Vv, 3 – VV, 4 – V^Pv, V^PV^P, 5 – V^PV, 6 – V^HV^H, 7 – V^HV^B, 8 – V^PV^H, 9 – V^PV^{Bh}, 10 – V^BV^B, V^PV^B, 11 – четырехлистный. На участке Радин частота листьев клевера с «седым рисунком» в 4 раза ниже, чем во всех других изучаемых популяциях. Низкое разнообразие (3 класса) на площадке Радин можно объяснить тем, что в экологически неблагоприятных условиях (радиоактивное загрязнение и засушливый участок) стабилизирующий вектор отбора направлен на увеличение частоты отдельных наиболее адаптивных генотипов.

Флуктуирующая асимметрия представляет собой небольшие ненаправленные отклонения живых организмов от строгой билатеральной симметрии. В данной работе индекс ФА не превышает контрольный уровень во всех импактных популяциях в оба года исследования. Хотя согласно литературным данным, статистически значимое увеличение индекса ФА листьев клевера было обнаружено на участке вблизи хранилища радиоизотопных термоэлектрических генераторов.

Таким образом, видимо, наблюдаемый в ближней зоне Чернобыльской АЭС уровень радиационного воздействия недостаточно высок для индукции устойчивого эффекта изменения площади, фенов и индекса ФА листьев клевера ползучего.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 20-74-10004).

Влияние гамма-облучения семян на фазы развития, морфометрические и фотосинтетические параметры проростков *Lupinus angustifolius* L. и *Lupinus luteus* L.

***Миценык А.С.*[*], *Николаева А.Ю.*[**], *Бондаренко Е.В.*[*], *Бондаренко В.С.*[*], *Волкова П.Ю.*[*]**

[*]ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии», Киевское шоссе, 109 км, Обнинск, Россия;
[**]Обнинский институт атомной энергетики – филиал Национального исследовательского ядерного университета «МИФИ», тер. Студгородок, 1, Обнинск, Россия.
micenyk-anastasi@mail.ru

Люпин *(Lupinus sp*.) – зернобобовая культура многоцелевого использования, обладающая рядом ценных сельскохозяйственных признаков. Люпин, в частности люпин жёлтый (*Lupinus luteus* L.) и узколистный (*Lupinus angustifolius* L.), применяется в качестве зелёного удобрения и фитомелиоративного растения для улучшения плодородия почв. Семена и зелёная масса *Lupinus sp.* характеризуется высоким содержанием белка, который по качеству не уступает белку сои, а в зависимости от вида и сорта даже превосходит по количеству незаменимых аминокислот. Однако, несмотря на явные преимущества люпина перед другими бобовыми, существует ряд проблем, которые мешают его массовому возделыванию. Одна из таких проблем – низкая устойчивость *Lupinus* к грибковым патогенам, в частности к возбудителю антракноза. Именно поэтому с начала 90-х посевные площади *L. luteus* в России сократились в несколько раз по сравнению с «условно» более устойчивым *L. angustifolius*. Увеличение разнообразия генетического материала отечественных сортов люпина жёлтого и узколистного, которое можно достичь применением радиационного мутагенеза, может решить проблему устойчивости этих культур к фитопатогенам. Применение ионизирующего излучения (ИИ) требует проведения радиобиологических исследований для изучения фенотипического ответа и оценки радиочувствительности люпина. Целью данного исследования является оценка влияния гамма-облучения на динамику прорастания семян, морфометрические параметры проростков (длина гипокотиля, длина корня, свежая масса), стадии развития и фотосинтетические параметры ювенильных растений *L. angustifolius* и *L. luteus*.

Сухие семена отечественных сортов люпина узколистного Белорозовый 144 и люпина жёлтого Надёжный (любезно предоставленные ВНИИ люпина – филиал ФГБНУ «ФНЦ кормопроизводства и агроэкологии им. В.Р. Вильямса», г. Брянск) облучали в дозах 25, 50, 100, 200 и 400 Гр мощностью 100 Гр/час на уникальной научной установке ГУР-120 (^{60}Co, ВНИИРАЭ) в 3 повторностях, по 20 семян в каждой. Семена выращивали в контролируемых условиях климатической камеры для культивирования растений (фитотрон ЛиА-2). Статистическая обработка результатов проводилась непараметрическими методами.

Воздействие гамма-излучения никак не повлияло на процент проросших семян люпина узколистного и люпина жёлтого. Тем не менее, с увеличением дозы статистически значимо увеличилось среднее время прорастания. Диапазон доз от 50 до 400 Гр статистически значимо уменьшал длину гипокотиля, корня и массу проростков *L. angustifolius*. Следует отметить, что в группах воздействия ИИ в дозах 50 и 100 Гр, при статистически значимом ингибировании длины гипокотиля, проростки сорта Белорозовый 144 имели такую же развитую корневую систему, как в контрольной группе. Диапазон доз 100-400 Гр оказал негативное влияние на способность *L. angustifolius* образовывать первые истинные листья, выступающие за пределы прямостоящих семядолей. Скорость появления первых истинных листьев замедлилась на 24-48 часов по сравнению с контролем и группами, облученными в дозах 25 и 50 Гр. Начало стадии образования первых листьев в контроле и при дозах 25 и 50 Гр у люпина узколистного пришлось на четвертые сутки после переноса растений в фитотрон. Анализ морфометрических параметров люпина жёлтого выявил стимулирующий эффект гамма-излучения в дозе 50 Гр, проявившийся в статистически значимом по сравнению с контролем увеличении длины гипокотиля и корня, и массы проростков. У люпина жёлтого в результате воздействия дозы 200 Гр, как и у люпина узколистного при дозах 50 и 100 Гр, наблюдали ингибирование длины гипокотиля и стимулирование развития корневой системы. Стадия появления первых истинных листьев у люпина жёлтого наступила на 7-е сутки после переноса в фитотрон в группе воздействия в дозе 50 Гр, что на 24 часа раньше, чем в контроле. Между исследованными морфометрическими параметрами выявлена статистически значимая положительная корреляция как у люпина жёлтого, так и у узколистного. Длина гипокотиля оказалась самым чувствительным к воздействию гамма-излучения фенотипическим параметром. Реакцию фотосинтетического аппарата ювенильных растений, выросших из облученных семян, оценивали по максимальному фотохимическому квантовому выходу ФС II и эффективному фотохимическому квантовому выходу ФС II в условиях светового насыщения.

Результаты данного эксперимента могут быть использованы в экспериментах по выявлению и описанию биохимических и молекулярно-генетических путей ответа растений люпина узколистного и жёлтого на воздействие гамма-излучения, а также могут быть полезны при изучении взаимодействия фенотипических признаков в процессе адаптации растений к воздействию абиотических факторов, включая радиационный.

Участие генов, связанных с программируемой клеточной смертью растений, в формировании тканей ствола *Pinus sylvestris* L.

Мощенская Ю.Л., Галибина Н.А., Ершова М.А., Корженевский М.А., Никерова К.М., Чирва О.В.

Институт леса – обособленное подразделение ФГБУН ФИЦ «Карельский научный центр Российской академии наук», ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия.
moshchenskaya@krc.karelia.ru

Запрограммированная гибель клеток (ПКС) является неотъемлемой частью многих процессов, связанных с размножением, ростом, развитием, адаптацией и реакцией на стресс у растений. У древесных растений наибольший интерес представляет ПКС, происходящая в ходе дифференцировки ксилемы (водопроводящей сосудистой ткани), составляющей большую часть древесной биомассы. Сосуды ксилемы состоят из сросшихся трахеальных элементов (ТЭ) – мертвых полых клеток, с лигнифицированными вторичными клеточными стенками. Формирование ТЭ происходит благодаря четко скоординированной последовательности событий, в которых дифференцировка и программируемая клеточная гибель тесно взаимосвязаны. Известно, что ПКС – это генетически детерминированный процесс. В качестве маркеров завершающей стадии ксилогенеза часто рассматриваются гены семейств сериновых и цистеиновых протеаз (эндопептидаз), эндонуклеаз, метакаспаз. В настоящем исследовании мы изучили профиль экспрессии генов семейства *BFN* (bifunctional endonuclease) – *BFN*, *BFN1*, *BFN2*, *BFN3* в формирующейся ксилеме и флоэме разновозрастных деревьев (30, 80, 180 лет) *Pinus sylvestris* L. Было показано, что у деревьев всех изученных возрастов в период активного камбиального роста в формирующейся ксилеме наибольший уровень экспрессии среди всех генов семейства *BFN* характерен для изоформы *BFN3*. Также в формировании ксилемы у деревьев *Pinus sylvestris* вероятно участвуют гены *CEP* (cysteine endopeptidase) и *MC5* (metacaspase 5), о чем свидетельствует их высокий уровень экспрессии в этой ткани.

Еще одним интересным примером клеточной дифференцировки у древесных растений является формирование ситовидных элементов флоэмы. Известно, что начальные этапы дифференцировки флоэмы протекают по пути ПКС – здесь происходит вакуолизация, дегенерация цитоплазмы, разрушение ядра. Однако клетки флоэмы не проходят полный путь ПКС, здесь не происходит гидролиза клеточной оболочки, митохондрии сохраняют свою жизнеспособность, локализуясь при этом непосредственно под плазматической мембраной. Очевидно, что при потере ядра ситовидные элементы флоэмы не могут сами поддерживать свою жизнеспособность и полностью зависят от клеток-спутниц, с которыми они тесно связаны благодаря формированию специализированных межклеточных контактов. При изучении в формирующейся флоэме профилей экспрессии генов, участвующих в ПКС у растений было показано, что наиболее высокий уровень транскрипции характерен для гена *BFN1* (деревья 30,80,180 лет) и гена *BFN2* (30 лет). Таким образом, данные изоформы *BFN* у *Pinus sylvestris* вероятно участвуют в деградации клеточного ядра при формировании ситовидных элементов флоэмы. Также высокий уровень транскрипции был показан для гена *MC5*. Известно, что метакаспазы являются важными участниками ПКС растений и участвуют в автолизе клеточного содержимого.

Pinus sylvestris L. является древесной породой, для которой характерно образование ядровой древесины. Известно, что формирование ядровой древесины сопровождается ПКС паренхимных клеток ксилемы. Данный процесс является малоизученным, однако известно, что мертвые паренхимные клетки не содержат органелл, они накапливают в себе различные вторичные метаболиты, которые придают устойчивость к биодеградации ядровой древесине. По мере формирования ядровой древесины значительные изменения претерпевает клеточное ядро, сначала изменяя форму с веретенообразной до эллиптической, а далее подвергаясь конденсации и деградации. Профиль экспрессии генов ПКС растений был изучен в заболонной древесине и транзитной зоне (зона перехода между заболонной и ядровой древесиной). В ходе исследования было показано увеличение экспрессии гена *BFN* при переходе от заболонной древесины к транзитной зоне в 11-15 раз, в зависимости от возраста деревьев, для гена *BFN1* – в 3-17 раз, для гена *BFN2* – в 4-5 раз.

Таким образом, данные, полученные в настоящей работе, позволили выявить молекулярно-генетические маркеры различных вариантов ПКС у разновозрастных деревьев *Pinus sylvestris* L.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось при финансовой поддержке РНФ (№ 21-14-00204).
Исследования выполнены на научном оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук».

Функциональная роль покровов семени в обеспечении фотохимической активности формирующихся зародышей *Pisum sativum* L.

***Смоликова Г.Н.*[*], *Закурин А.О.*[**], *Степанова Н.В.*[**], *Камионская А.М.*[**], *Медведев С.С.*[*]**

[*] Санкт-Петербургский государственный университет, кафедра физиологии и биохимии растений, Университетская наб., 7-9, Санкт-Петербург, Россия;
[**] Институт биоинженерии им. К.Г. Скрябина ФГУ ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, группа биоинженерии растений, проспект 60-летия Октября, 7, 1, Москва, Россия.
g.smolikova@spbu.ru

Большинство современных исследований, посвященных разработке подходов, связанных с повышением продуктивности культурных растений, сосредоточены на анализе и измерениях параметров фотосинтеза на уровне листа. Тем не менее, в клетках других органов растений также могут синтезироваться хлорофиллы и формироваться активно работающие хлоропласты. Поэтому в последнее десятилетие стало активно развиваться направление, связанное с изучением механизмов т.н. *нелистового* фотосинтеза (non-foliar photosynthesis), происходящего в черешках листьев и стеблях, плодах и репродуктивных органах, наружной коре стволов многолетних растений и др. К нелистовому типу фотосинтеза также относятся процессы, происходящие в формирующихся семенах растений с зеленым зародышем (хлороэмбриофитов). Известно, что функционирование фотосинтетического аппарата у зародышей направлено не на синтез моносахаридов, как в листьях, а на синтез запасных соединений (в первую очередь, жирных кислот). При этом, приоритетной функцией хлоропластов семян является быстрый синтез НАД(Ф)•Н и АТФ, которые расходуются на превращение поступающей из материнского растения сахарозы в ацетил-СоА, жирные кислоты и далее в триглицериды. Важной особенностью эмбриональных фотохимических реакций является то, что источником углерода служит не CO_2 воздуха, а сахароза, поступающая из материнского растения, а также CO_2, выделяющийся при дыхании семян. Интересно, что для формирующих семян, по-видимому, достаточно функционирования только начальных этапов цикла Кальвина, связанных с фиксацией CO_2 и образованием восстановленных триоз, которые используются на синтез жирных кислот. При этом наряду с РУБИСКО в фиксации CO_2 участвует, по-видимому, и ФЕП-карбоксилаза. Кислород, выделяющийся при фотоокислении воды, предотвращает гипоксию и поддерживает митохондриальное дыхание развивающихся семян. Поэтому «эмбриональные» фотохимические реакции необходимы не только для аккумуляции запасных питательных веществ, но и для обеспечения формирующих семян кислородом. Однако, остается много вопросов как зародыши семян, покрытых тканями перикарпия и кожуры, получают достаточное количество света для обеспечения энергией фотохимических реакций. Объектом нашего исследования являлись семена и растения гороха посевного (*Pisum sativum* L.). Растения выращивали на базе ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН в экспериментальной установке искусственного климата (ЭУИК) под естественным освещением с досветкой натриевыми и ртутными лампами и в световой установке закрытого типа, оснащенной светодиодами разных длин волн. Активность фотохимических процессов (Fv/Fm, Y(II)) изучали методом PAM-флуориметрии с использованием PAR-FluorPen FP 110 (Photon Systems Instruments, Чехия), содержание хлорофиллов определяли неинвазивно при помощи портативного прибора atLEAF (США). Интенсивность освещенности и спектральный состав света оценивали при помощи спектрометра UPRtek PG100N (Тайвань). Сравнительный анализ тканей листьев, перикарпа и кожуры формирующихся семян гороха показал существенные различия по их способности пропускать свет разных длин волн. Динамика светопропускания менялась на разных стадиях формирования семян. Полученные результаты свидетельствуют о функциональной роли покровов семени в обеспечении формирующихся семян необходимым количеством световой энергии.

Работа выполнена за счет средств гранта РНФ № 22-26-00273 с использованием оборудования РЦ Научного парка СПбГУ.

Полиэкстремофильные красные микроводоросли Cyanidiales

Стадничук И.Н.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Ботаническая ул., 35, Москва, Россия.
stadnichuk@mail.ru

Микроводоросли Cyanidiales являются высокоспецифичной группой эукариотных фотосинтетиков в составе Rhodophyta. Представители группы обитают в геотермальных серных источниках, считавшихся недоступными для эукариот, и являются полиэкстремофилами, растущими при крайне низких значениях pH 0-4 и температуре вплоть до +56 ^{o}C в присутствии токсичных ионов тяжелых металлов. Совокупность подобных условий известна лишь для ряда архей и бактерий, но не описана для каких-либо иных эукариотных организмов. Кроме того, виды, принадлежащие роду *Galdieria* в составе *Cyanidiales* способны наряду с автотрофией к гетеротрофному росту с использованием десятков различных органических субстратов, что необычно для оксигенных фотосинтетиков. Длительное время Cyanidiales служили лишь объектами интересов альгологии и экофизиологии . В конце 80-х – начале 90-х годов прошлого века было открыто несколько новых представителей этой группы, в чем немалую роль сыграли результаты исследований, выполненных в нашей стране на Курильских островах и на Камчатке, и расширившие видовой состав и биогеографию вулканических зон обитания этих уникальных фотосинтезирующих микроорганизмов. Начавшиеся затем генетические, биохимические и молекулярно-биологические исследования Cyanidiales и иных красных водорослей пролили свет на ранние этапы становления оксигенного фотосинтеза, включая эндосимбиотическое происхождение хлоропластов и формирование супергруппы архепластид, т.е. красных, зеленых и глаукофитовых водорослей, имеющих двумембранные хлоропласты. Изучение архепластид позволяет проследить последующее распространение оксигенного фотосинтеза среди остальных водорослевых фил и наземных растений. Секвенирование геномов у ряда видов *Cyanidiales* и других красных водорослей показало, что их эволюция сопровождалась утратой значительной доли генов, присутствовавших у общего фотосинтезирующего эукариотного предка. Оказалось, что эволюционный прогресс может быть обязан своим протеканием не только увеличению разнообразия генов, но и их элиминации за счет сокращения энерготрат клеток на содержание генетического аппарата. Филогеномный анализ в сопоставлении с изучением метаболических путей за последние годы позволили установить, что устойчивость к жестким стрессовым условиям унаследована Cyanidiales от экстремофильных прокариот, благодаря чему был открыт горизонтальный перенос генов (ГПГ) между про- и эукариотами, известный ранее только для коэволюции архей и бактерий. Виды данной полиэкстремофильной группы ы можно культивировать в лабораторных условиях и в открытых водоемах, где любые иные микроводоросли подвергаются риску бактериального заражения. В настоящее время изучение видов с полностью секвенированными геномами, относящихся к *Cyanidiales,* является междисциплинарной областью биологии, имеющей прекрасные биотехнологические перспективы и позволяющей очертить границы адаптационных изменений, совместимых для эукариот с существованием жизни.

Мульти- и гиперспектральный имиджинг в дистанционном мониторинге стрессовых изменений у растений

Сухов В.С., Сухова Е.М.

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, пр-т. Гагарина, 23, Нижний Новгород, Россия.
vssuh@mail.ru

Действие неблагоприятных факторов окружающей среды, включая засуху, высокие и низкие температуры, флуктуации интенсивности освещения, засоление, разнообразные биотические стрессоры и т.д., может приводить к значительному снижению продуктивности сельскохозяйственных растений и, тем самым, лимитировать урожай. Одним из путей минимизации ущерба при действии таких факторов является развитие методов дистанционного мониторинга, которые позволяют осуществить раннее и пространственно-дифференцированное выявление поражения растений и своевременно принять защитные меры. Оптические методы являются наиболее перспективной группой методов дистанционного мониторинга вследствие высокой производительности и относительно низкой стоимости. К таким методом могут быть отнесены RGB-имиджинг, тепловидение, флуоресцентный имиджинг и спектральный имиджинг отраженного света, включая мульти- и гиперспектральный имиджинг.

В основе мультиспектрального имиджинга лежит получение изображения растений в нескольких узкополосных спектральных полосах, которые связаны с конкретными физиологическими параметрами растений (содержание воды, концентрация пигментов, интенсивность фотосинтетических процессов и другие). Наиболее часто используемым инструментом для мультиспектрального имиджинга являются специализированные «многоглазковые» камеры, включающие в себя несколько отдельных камер, каждая из которых снабжена узкополосным спектральным фильтром и получает изображение в соответствующей спектральной полосе. Гиперспектральный имиджинг позволяет измерить спектр отраженного света в каждой пиксели получаемого изображения. При этом наиболее широко используются гиперспектральные камеры, которые оснащены призмой (или дифракционной решеткой), разлагающей световой поток по спектру; такие системы позволяют получать изображение линия за линией при движении камеры (или ее части) относительно исследуемого объекта. Следует отметить, что гиперспектральный имиджинг является потенциально более информативным; однако, требует применения технически более сложных систем, имеющих высокую стоимость.

Измерение спектров отраженного света или его интенсивности в отдельных спектральных полосах является лишь первой задачей в рамках дистанционного мониторинга. Следующей сложной задачей является интерпретация полученных данных и выявление на их основе состояния растений. Среди подходов к ее решению (включая использование нейросетевых алгоритмов и математических моделей распространения света в листьях и растительном покрове), следует отдельно отметить применение индексов отражения. Такие индексы обычно представляют собой безразмерные величины, рассчитанные с использованием интенсивностей отраженного света на двух или более длинах волн, которые могут быть использованы для выявления конкретных физиологических показателей растений. В частности, существуют индексы отражения, чувствительные к общему объему фотосинтезирующей биомассы растений, концентрации хлорофиллов, каратиноидов и антоцианов, содержанию воды и интенсивности фотосинтетических процессов; индуцированные стрессорами изменения таких индексов используются для выявления действия неблагоприятных факторов на растения. Важной особенностью последней группы индексов (это, прежде всего, фотохимический индекс отражения и его модификации) является чувствительность к быстрым фотосинтетическим ответам растений, включая изменения на минутных, секундных и даже миллисекундных временных интервалах. Такая особенность делает фотохимический индекс отражения и его модификации перспективным инструментом для раннего выявления стрессовых изменений фотосинтеза растений и для дистанционной оценки фотосинтетических параметров.

Индексы отражения являются эффективными инструментами при мультиспектральном имиджинге; однако, при гиперспектральном имиджинге их эффективность может быть дополнительно повышена. Комплексный анализ спектров отражения позволяет одновременно рассчитать весь массив потенциально возможных индексов отражения, вычисляемых по определенной формуле. Далее, полученный массив может быть использован как для выявления новых индексов отражения, перспективных для дистанционного мониторинга (на основании тепловых карт корреляции индексов с физиологическими показателями или значимостей изменений индексов при действии конкретных стрессоров), так и для выявления эффективных сочетаний таких индексов.

В завершение, следует отметить, что мульти- и гиперспектральный имиджинг может быть реализован на различных платформах, включая ручные приборы, наземный транспорт, БПЛА (коптеры и дроны), пилотируемые летательные аппараты (прежде всего, самолеты) и спутники; выбор оптимальной платформы для решения конкретной задачи дистанционного мониторинга состояния растений определяется компромиссом между производительностью, точностью и стоимостью измерений.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда, проект 17-76-20032.

Анализ влияния почвенной засухи на горох и пшеницу с помощью новых нормализованных индексов отражения

Сухова Е.М., Юдина Л.М., Попова А.Ю., Золин Ю.А., Сухов В.С.

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, пр. Гагарина, 23, Нижний Новгород, Россия.
n.catherine@inbox.ru

Растениеводство является важной отраслью хозяйства, обеспечиваю важную часть сырьевой базы. Однако в связи с тем, что растения ведут прикрепленный образ жизни, они страдают от действия множества стрессоров. В частности, почвенная засуха является серьезной проблемой для сельского хозяйства. Длительное действие засухи на растения вызывает замедление их роста, снижение количества и качества плодов и др. Своевременное выявление возникающей проблемы при помощи методов дистанционного мониторинга позволяет принять необходимые меры для спасения урожая. Одним из таких методов является регистрация и анализ индексов отражения у растений. Их широко используют для оценки фотосинтетического ответа растений, прироста биомассы содержания воды и пигментов в условиях действия стрессоров. Однако поиск индексов отражения, подходящих для оценки состояния растений является сложной и трудоемкой задачей. В данной работе мы провели комплексный анализ спектров отражения в видимом диапазоне с построением всех возможных нормализованных индексов отражения в условиях кратковременного водного дефицита и дальнейшей проверкой отобранных индексов для оценки состояния растений в условиях длительной почвенной засухи.

В экспериментах использовали 2-4-недельные растения гороха и пшеницы. Растения выращивали в вегетационной комнате при 23 ºС и16/8-часовом световом режиме. Почвенную засухи индуцировали прекращением полива растений, контрольные растения продолжали регулярно поливать каждые два дня. Длительность засухи составила 13 и 17 дней для гороха и пшеницы, соответственно. Дополнительно индексы были проверены на пшенице в условиях открытого грунта, длительность засухи составила 11 дней. Отраженный листьями растений свет измеряли при помощи гиперспектральной камеры Specim IQ (Specim, Spectral Imaging Ltd., Oulu, Finland). Индексы отражения рассчитывали, как отношение разности и суммы интенсивности отражения на двух длинах волн. Изменение содержания воды при развитии засухи оценивали посредством измерения сухого и сырого веса. Предварительный анализ спектров отражения гороха с использованием тепловых карт достоверности различий позволил выявить 46 индексов отражения, чувствительных к влиянию на растения краткосрочного водного почвенного дефицита. Далее был проведен анализ чувствительности выявленных индексов к действию долгосрочной почвенной засухи у гороха и пшеницы. Наиболее эффективными для выявления действия почвенной засухи у этих растений оказались индексы отражения RI(613, 605) и RI(670, 432) как в лабораторных условиях, так и в условиях открытого грунта. При этом они показали высокую связь с содержанием воды в растениях. Нами было предположено, что изменение индекса RI(613, 605) при развитии засухи может быть связано с разной скоростью деградации хлорофиллов a и b. В свою очередь, изменения RI(670, 432), вероятно, связаны с разной скоростью деградации каротиноидов и хлорофиллов при действии стрессора.

Выявленные нами индексы могут представлять интерес для оценки состояния растений и выявления действия засухи и развития приборов дистанционного мониторинга. Дальнейшее исследование выявленных индексов может также представлять интерес для обнаружения действия других стрессоров.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (проект № 20-016-00234 А)

Использование фенотипических показателей в качестве предикторов продуктивности и устойчивости пшеницы

Шерстнева О.Н., Хлопков А.Д., Громова Е.Н., Киор Д.С., Воденеев В.А.

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, пр. Гагарина, 23, Нижний Новгород, Россия.
sherstneva-oksana@yandex.ru

Важнейшей задачей селекции является раннее выявление и отбор наиболее перспективных линий растений с наилучшими хозяйственно значимыми характеристиками как в оптимальных, так и в стрессовых условиях. Одним из способов ускоренной оценки перспективности растений является их фенотипирование, которое позволяет оценить состояние растений в раннем возрасте и выявить связи между различными свойствами молодых растений и их конечной продуктивностью и устойчивостью к стрессорам. В настоящее время широкое развитие получили оптические методы исследования, среди главных преимуществ которых можно выделить неинвазивность и высокую скорость получения данных.

Целью данной работы стал поиск фенотипических показателей, позволяющих предсказать фотосинтетическую продуктивность и засухоустойчивость растений пшеницы в более позднем возрасте.

Исследования проводились на проростках пшеницы мягкой (*Triticum aestivum* L.) яровой 11 сортов, выращенных в контролируемых условиях при температуре 24ºС, относительной влажности воздуха 50% и 16-часовом световом периоде. В возрасте 2 недель производилась оценка фенотипических параметров растений (гиперспектральный (Specim iq, Spectral Imaging Ltd., Финляндия) и PAM-имиджинг (Open FluorCam FC 800-O/1010-S, Photon Systems Instruments, Чехия)), затем у опытной группы прекращался полив. Через 5, 10 и 15 дней засухи у опытной и контрольной групп анализировались гиперспектральные изображения, параметры флуоресценции хлорофилла и морфометрические параметры (длина, сырой и сухой вес побегов и корней).

Оценку связи фенотипических показателей с продуктивностью и устойчивостью растений в более позднем возрасте осуществляли на основе корреляционного анализа. В качестве показателя фотосинтетической продуктивности использовали сухую массу целых растений. Было показано, что эффективный и темновой квантовые выходы фотосистемы II (Φ_{PSIIef} и Φ_{PSIId}), а также время полувыхода на Φ_{PSIIef} после включения актиничного света ($t_{1/2}(\Phi_{PSIIef})$) у двухнедельных проростков пшеницы показали статистически значимую ($p < 0,05$) корреляцию с продуктивностью растений пшеницы в возрасте 4 недель (коэффициент корреляции Пирсона (r) составил 0.74, 0,69 и –0,65, соответственно).

Аналогичный подход был использован для оценки связи показателей флуоресценции хлорофилла с устойчивостью растений пшеницы к засухе. Устойчивость растений к засухе определяли на основе сопоставления сухого веса контрольных и опытных растений через 15 дней после окончания полива. Статистически значимую связь с устойчивостью продемонстрировал лишь один показатель флуоресценции хлорофилла – темновой уровень квантового выхода фотосистемы II Φ_{PSIId}, который также имел статистически значимый уровень корреляции с продуктивностью ($r = –0,63$, $p < 0,05$). В то же время, зависимость была разнонаправленной – положительная в случае продуктивности, отрицательная в случае устойчивости.

В результате анализа гиперспектральных изображений растений исследуемых сортов были определены спектральные диапазоны, в пределах которых значения интенсивности отражённого света статистически значимо коррелируют с накопленной биомассой, и выполнен анализ связи спектральных параметров с устойчивостью растений пшеницы к засухе.

Использование идентифицированных прогностических параметров способно повысить эффективность процесса селекции, основанного на генетических технологиях, за счет добавления фенотипирования на ранней стадии, включая регистрацию флуоресценции хлорофилла и спектральных характеристик. Такой анализ является неинвазивным и позволяет быстро оценить состояние растения, не выводя его из процесса селекции.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России проекта «Хлеба России» по соглашению № 075-15-2021-1066 от 28.09.2021 г.

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

Beckett R.P. 89
Gorina S.S 5
Herasimovich K.M. 8
Hileuskaya K.S. 8, 9
Kalatskaja J.N. 8, 9
Kiseleva I.S. 6
Kulikouskaya V. 9
Laman N.A. 8, 9
Lutskiy E.O. 7, 142
Mishko A.E. 142
Mukhtarova L.S. 5
Nedved H.L. 8
Nikalaichuk V.V. 8
Ogorodnikova A.V. 5
Rybinskaya E.I. 8
Sundyreva M.A. 7, 142
Toporkova Y.Y. 5
Vyalkov V.V. 142
Yalouskaya N. 9
Yu M. 44
Абдулкина Л.Р. 199
Абугалиева А.И. 85
Авальбаев А.М. 10, 12
Авдеева Г.С. 154
Агабекян И.А. 199
Агеева М.Н. 11, 43, 106, 146, 165, 178
Аксенова М.А. 163
Аксёнов-Грибанов Д.В. 164
Аллагулова Ч.Р. 10, 12
Алмуграби Е. 35
Алова А.В. 13
Алхаже К. 45, 156
Алшиха А. 200
Андреева А. А. 14
Андрюхин А.А. 15
Анисимов А.В. 125
Анохина Г.Б. 15
Антех Д.Д. 16
Арбузова Г.А. 177
Ариф М.А.Р. 198
Архипова Т.Н. 149
Атабекова А.К. 143
Атоян М.С. 17
Афонников Д.А. 198
Афошин Н. В. 18, 98, 204
Ахиярова Г.Р. 24, 28, 149
Ахметова Г.В. 190
Бабина Д.Д. 180
Бабина Д.Д. 63
Бабич О.О. 156
Бакунов А.Л. 97
Балашов Н.В. 19, 29
Балюк Н.В. 20
Батова Ю.В. 2, 65
Бекетт Р.П. 46
Белимов А.А. 45
Белых Е.С. 37, 120
Белышенко А.Ю. 164
Бельков В.И. 71
Березина Е.В. 76, 165, 178
Бёрнер А. 198
Бертова А.Д. 52
Бикташева М.О. 52
Билова Т.Е. 45, 121, 156
Битаришвили С.В. 22, 135
Блинова А.А. 74
Богданова Е.М. 52
Богданова Е.С. 97, 113, 201
Бойко Е.В. 167
Большакова М.А. 167
Бондаренко В.С. 135, 210
Бондаренко В.Ю. 202
Бондаренко Е.В. 180, 210
Бондаренкова А.Д. 176
Борисова-Мубаракшина М.М. 19, 23, 29, 30
Боровский Г.Б. 71
Бородина М.Н. 98,204
Брейгина М.А. 24,138
Брилкина А.А. 11, 43, 76, 106, 146, 165, 178
Бугара И.А. 173
Булычев А.А. 13
Бурлаковский М.С. 179
Бурханова Г.Ф. 100
Бурыгин Г.Л. 144, 148, 184
Буторлин О.С. 110
Бухарина И.Л. 166
Буцанец П.А. 40, 54
Быковская И.А. 102
Быстрова Е.И. 58
Бычков И.А. 25
Валеева Л.Р. 26, 117, 199
Валиева А.К. 59
Валитова Ю.Н. 131
Ванисов С.А. 110
Васильев С.В. 40, 54
Васильев С.Е. 90
Васильева И.В. 129
Велегжанинов И.О. 37
Венжик Ю.В. 27
Веселов Д.С. 28, 149
Веселова С.В. 100
Ветошкина Д.В. 19, 23, 29, 95
Ветрова Я.А. 92, 165
Ветчинникова Л.В.1 29
Вильянен Д.В. 30, 115
Вихорев А.В. 121
Власова А.А. 31, 38
Воденеев В.А. 11, 43, 75, 76, 92, 106, 146, 203, 216
Войников В.К. 177
Волкова П.Ю. 22, 63, 107, 135, 180, 209, 210
Воробьев В.Н. 32
Воронин П.Ю. 33
Высоцкая Л.Б. 28
Вялков В.В. 34
Галеева Е.И. 131
Галибина Н.А.1 ....8, 98, 119, 134, 170, 204, 208, 211
Галиев И.В. 35
Галин И.Р. 149

Галин И.Р. 149
Галиханова У.А. 172
Галкина А.А. 77
Гарипова М.И. 132
Гармаш Е.В. 36, 37, 120
Гарник Е.Ю. 31, 38
Гатауллина М.О. 39
Генаев М.А. 198
Генерозова И.П. 40, 41, 54, 96
Герасимов Н.Ю. 41, 96
Гилевская К.С. 101
Гирке П.У. 198
Гоголев Ю.В. 152, 153, 155, 158
Гоголева Н.Е. 152, 153, 155, 158
Гоголева О.А. 152, 155
Голденкова-Павлова И.В. 122, 126, 168, 186
Головацкая И.Ф. 62, 167
Голохваст К.С. 74
Голощапов А.Н. 41, 96
Горбатова И.В. 63
Горбач Д.П. 121
Горшков А.П. 145, 160, 161
Горшков В.Ю. 152, 153, 155, 158
Горшкова Т.А. 42,125
Грабельных О.И. 71
Гречкин А.Н. 159
Григориади А.С. 157
Григорьев М.Р. 205
Григорьева А.В. 39
Григорьева О.В. 51
Гринберг М.А. 43, 106, 146
Гриусевич П.В. 44
Гришина А.И. 146
Громова Е.Н. 206, 216
Груздев В.Н. 51
Гуляева Е.Н. 72, 204
Гурина А.К. 45
Гурьянова А.С. 77
Даминова А.Г. 46
Даминова А.И. 105
Данилова Е.Д. 47
Данилова М.Н. 50
Дегтярёв Е.А. 48
Дейнеко Е.В. 49
Демидова А.С. 144
Демидчик В.В. 44, 86, 111, 116, 202, 207
Демченко К.Н. 87
Демьянчук И.С. 168, 186
Денисова А.Ю. 148, 184, 191
Дерябин А.Н. 27
Дмитриева М.Е. 164
Добычкина Д.А. 147, 151
Додуева И.Е. 151
Долгов С.В. 48
Донская М.В. 169
Дорошенко А.С. 50
Дроздова И.В. 51
Дубовец Н.И. 65
Дубровная С.А. 188
Дубровская Е.В. 176
Дубровский М.Д. 110
Дударева Л.В. 99, 177
Дыкман Л.А. 27
Дымова О.В. 37
Евсеева Н.В. 148, 184, 191
Емельянов В.В. 52,110
Епринцев А.Т. 15, 39, 130
Ершова А.Н. 53
Ершова М.А. 98, 134, 170, 204, 211
Ефимов В.М. 198
Ефимова М.В. 47, 70, 93
Ефремова Е.П. 171
Жигачева И.В. 41, 54, 96
Жуковская Н.В. 55, 58
Журавлев А.С. 59
Загоскина Н.В. 163
Зайцев Г.А. 163
Зайцева М.И. 190
Закурин А.О. 212
Занегина Д.А. 106
Захаров М.А. 42
Здобнова Т.А. 146
Зикрина И.И. 10, 12
Злобин И.Е. 56
Зобкова Н.В. 157
Золин Ю.А. 139, 215
Золотухина А.В. 51
Зубова М.Ю. 57
Ибрагимова С.М. 26
Иванов Б.Н. 23, 30, 95, 115
Иванов В.Б. 55, 58, 78
Иванов И.И. 28
Иванов Л.А. 59, 88, 140
Иванов Ю.В. 56
Иванова А.И. 56
Иванова Д.С. 18, 98, 119, 204
Иванова Л.А. 59, 88, 140
Иваченко Л.Е. 60, 74
Игнатенко А.А. 21, 65
Игнатенко Р.В. 170
Игнатова Л.К. 95, 115
Игошкин Г.А. 11
Икконен Е.Н. 61, 83, 189
Ильина Е.Л. 87
Ильюшин В.А. 181
Йошитаке Й. 26
Исмаилова А.А. 165
Кадырбаев М.К. 62, 167
Казаков Е.И. 63
Казакова Е.А. 63
Казанцева В.В. 137
Казахмедов Р.Э. 64
Казнина Н.М. 21, 65, 133
Каирбекова Д. 57
Калацкая Ж.Н. 20, 101
Калганова Н. В. 77
Кальясова Е.А. 66, 94
Камионская А.М. 212
Каргаполова К.Ю. 148, 184
Карташов А.В. 56, 80

Киор Д.С. 216
Кириченко К.А. 177
Кирпичникова А.А. 154
Кирцидели И.Ю. 181
Кирюшкин А.С. 87
Киселева А.С. 172
Киселёва И.С. 82
Кисель Е.В. 121
Китаева А.Б. 160
Клаус А.А. 80
Клемешова К.В. 67
Клименко Е.С. 24, 138
Коваль В.С. 198
Коваль Е.В. 68
Ковальчук Д.И. 173
Кожевникова А.Д. 55, 69, 79, 86, 118
Козлов Н.В. 174
Козлова Е.А. 43
Козулёва М.А. 23, 30, 95, 115
Колесников Г.Н. 190
Колмыкова Т.С. 182
Коломейчук Л.В. 70
Комышев Е.Г. 198
Коннова Т.А. 158
Константинов Ю.М. 38
Корженевский М.А. 98, 134, 204, 208, 211
Коржова М.А. 98
Коротаева Н.Е. 71
Кособрюхов А.А. 72, 81, 84
Косогова Т.М. 73
Котлова Е.Р. 113
Кочи Т. 26
Кощеева В.М. 66, 94
Кравец А.В. 187
Красноперова Е.Ю. 174, 175
Крикунова Н.И. 54
Крутова Е.К. 128
Крылова Е.А. 121
Крючкова Е.В. 176
Кудоярова Г.Р. 149
Кудрякова Н.В. 14, 25
Кузнецов В.В. 14, 25, 50, 80
Кузнецов Вл.В. 47, 56
Кузнецова А. В. 45
Кузнецова В.А. 60,74
Кузнецова Д.В. 75, 76
Кузнецова Е.В. 144
Кузьмин И.В. 59
Кулаженко М.С. 26
Куликов А.А. 184
Куликовская В.И. 101
Курносова Т.Л. 102
Кусакин П.Г. 145, 160
Кырнышева М.В. 120
Лаврентьева С.И. 60
Ладейнова М.М. 75, 76
Лазарева Е.А. 143
Ламан Н.А. 20
Ланцова Н.В. 159
Ларина М.В. 165
Лебедев В.Г. 150
Лебедева М.А. 147, 151
Лебедева Т.Н. 150
Лезжов А.А. 143
Лубянова А.Р. 12
Лукаткин А.С. 77, 182
Лукашева Е.М. 45
Лунева О.Г. 138
Лунькова Н.Ф. 58, 78, 137
Лутова Л.А. 147, 151, 171, 174, 175, 179, 195
Луцкий Е.О. 34
Лыкова Т.Ю. 79
Лысенко Е.А. 80, 111
Лыченкова М.А. 107, 209
Любимов В.Ю. 72, 81
Любушкина И.В. 177
Лямзин В.И. 166
Макаренко Е.М. 107
Макаренко Е.С. 209
Макеева А.А. 50
Максимов И.В. 100
Максимов Т.Х. 205
Макшакова О.Н. 158
Малыгин М.В. 82
Малышев Р.В. 17
Малюкова А.М. 50
Малюкова Л.С. 57
Мамаев А.В. 83
Мамаева А.С. 26
Маренина Е.А. 155
Марковская Е.Ф. 72
Мартиросян Л.Ю. 84
Мартиросян Ю.Ц. 84
Мартыненко Е.В. 149
Масимгазиева А.С. 85
Матвейкина Д.А. 167
Мацкевич В.С. 86, 116
Машкина В.В. 87
Медведев С.С. 121, 212
Медведева Ю.В. 167
Мешалкина Д.А. 156
Мещеров А.Р. 152, 155
Мигалина С.В. 59, 88
Микшина П.В. 153
Милехин А.В. 97
Мин Ю. 86
Минибаева Ф.В. 46, 89, 131
Минич А.С. 90
Минич И.Б. 90
Миннигалиева А.Ф. 100
Мирошниченко Д.Н. 48
Михеев В.С. 178
Миценык А.С. 180, 210
Моисеев А.С. 63
Моисеев С. К. 77
Моргунов А.И. 85
Моргунова М.М. 164
Морозов С.Ю. 143
Морозова И.В. 91
Москвитина П.П. 15
Мостякова А.А. 16, 35
Мошков И.Е. 27

Мошников С.А. 18, 119, 204
Мощенская Ю.Л. 98, 134, 204, 208, 211
Мудрилов М.А. 76, 92
Муратова А.Ю. 176
Мурган О.К. 93
Мухаметзянов Т.А. 158
Мухина Ж.М. 52
Мухтарова Л.Ш. 159
Мшенская Н.С. 66, 94
Надеева Е.М. 29, 95
Надеева-Журикова Е.М. 115
Назаренко Л.В. 57
Найдов И.А. 23, 29, 30
Неврова О.В. 41, 96
Недведь Е.Л. 101
Немцова Ю.А. 43
Неронова Я.А. 108
Неруш В.Н. 206
Нестеров В.А. 113
Нестеров В.Н. 97, 201
Нечаева Т.Л. 163
Никерова К.М. 98, 134, 190, 204, 211
Николаева А.Ю. 210
Николаева Н.Н. 189
Николаева Т.Н. 16
Николайчук В.В. 101
Новосельский И.Ю. 44
Нохсоров В.В. 99
Нужная Т.В. 100, 149
Овчинников И.А. 101
Огородникова С.Ю. 68
Огурцов И.Б. 60
Окулова Е.С. 179
Омаров Р.С. 187
Омельченко А.В. 173
Оплетаев А.С. 88
Орлова А.А. 156
Орловская О.А. 65
Осипова Е.В. 155, 158
Осипова Л.В. 102
Павленко О.С. 122
Павличенко В.В. 103
Павлова М.А. 104
Падкина М.В. 179
Пак М.Э. 185
Панченко Л.В. 176
Парфирова О.И. 153
Пахомова В.М. 105
Пашковский П.П. 56
Пеккоев А.Н. 108, 109
Переляева Е.В. 164
Перк А.А. 129
Петрова А.А. 42
Петрова О.Е. 152, 153, 158
Печёрина А.А. 75, 76, 106
Пиголев А.В. 48
Пишенин И.А. 63
Плотников А.А. 12
Повыдыш М.Н. 156
Подлуцкий М.С. 22, 63, 107
Подобед М.Ю. 63, 180
Пожванов Г.А. 181
Позднякова Н.Н. 148
Полевова С.В. 24
Полшкова В.Р. 39
Полякова М.С. 177
Поморцев А.В. 177
Пономарев А.Г. 129
Пономарев С.Н. 152
Пономарева М.Л. 152
Попов В.Н. 27
Попова А.Ю. 139, 215
Попытченко Л.М. 73
Поценковская Э.А. 174
Празян А.А. 63, 107, 135
Пржевальская Д.А. 202
Придача В.Б. 108
Прокопович П.Ф. 189
Прокопюк В.М. 170
Прокофьева М.Ю. 109, 137
Пронин А.С. 182
Протопопов Ф.Ф. 123
Протопопова М.В. 103
Прохоренко Н. Б. 200
Пузанский Р.К. 110. 154
Пчёлкин В.П. 91
Пшибытко Н.Л. 111
Ракова Ю.В. 66, 94
Рассабина А.Е. 46
Ратницына Д.А. 112
Рахманкулова З.Ф. 137
Ренкова А.Г. 131
Репкина Н.С. 65
Решетняк Н.В. 73
Ржевская В.С. 173
Робонен Е.В. 91, 190
Рогов А.М. 46
Рогожин Е.А. 185
Розенцвет О.А. 97, 113, 201, 204
Ронжина Д.А. 59, 88, 140
Рубаева А.А. 114
Рубцов С.Л. 97
Руденко Н.Н. 23, 29, 95, 115
Рыбин Д.А. 165
Рыженко А.С. 121
Рыфф И.И. 124
Рязанов Е.А. 155
Сабуров В.О. 63
Савченко Т.В. 48
Садыкова В.С. 185
Сазонова Т.А. 108
Саидова Л.Т. 109, 137
Самохина В.В. 116
Санникова А.В. 117
Селивёрстова Е.В. 160, 161
Сельдимирова О.А. 149
Семенова Л.И. 18, 98, 119, 204
Семин Д.Е. 108
Сеник С.В. 99, 113
Серебрякова О.С. 129
Серегин И.В. 55, 69, 79, 86, 118
Серкова А. А. 98, 119, 204

Серова Т.А. 160
Сигида Е.Н. 144
Силина Е.В. 37, 120, 127
Силинская С.А. 156
Синицына Ю.В. 66, 94
Скулачев Б.И. 143
Смирнов П.Д. 110
Смирнова Е.О. 159
Смоликова Г.Н. 121, 212
Смолич И.И. 86
Смолобочкин А.В. 153
Соболев А.Н. 183
Соболев Д.С. 122
Соболева А.В. 156
Соболева Г.В. 183
Соколик А.И. 86, 116
Соловьев А.Г. 143
Соловьева А.Д. 143
Сорокань А.В. 100
Сотникова Ю.М. 157
Софронова В.Е. 99, 123
Софронова И.Н. 98, 204
Стадничук И.Н. 213
Стаматиди В.Ю. 124
Степанова Н.В. 212
Стефанович А.Е. 116
Стручкова И.В. 178
Стрыгина К.В. 121
Сундырева М.А. 34
Суслов М.А. 125
Сухих С.А. 156
Сухов В.С. 112, 139, 206, 214, 215
Сухова Е.М. 112, 139, 206, 214, 215
Сухорукова А.В. 126, 168
Сушкова Д.В. 93
Схат Х. 69, 118
Сырова Д.С. 45
Сыромятникова Е.Д. 153
Табаленкова Г. Н. 127
Тарасенко В.И. 71
Тарасов С.С. 128
Тарелкина Т.В. 18, 98, 108, 119, 208
Таскина К.Б. 21
Татаринова Т.Д. 129
Творогова В.Е. 171, 174, 175, 195
Тендюк Н.В. 158
Теребова Е.Н. 104
Тимофеева О.А. 16, 35, 172
Тимошин Н.Н. 73
Титов А.Ф. 61, 83, 133, 136
Ткаченко О.В. 144, 148, 184, 191
Толкачева Ю.В. 44
Топоркова Я.Ю. 159
Третьякова И.Н. 185, 193, 196
Туманик Н.В. 108
Тумуржав Ш. 88
Турковская О.В. 176
Тюрин А.А. 122, 168, 186
Тюрин А.В. 126
Фадеев В.С. 186
Фархутдинов Р.Г. 132, 157
Федорин Д.Н. 130
Федорова Е.А. 102
Федорчук Т.П. 23, 115
Федяев В.В. 28, 132, 157
Финичёва А.А. 90
Флорес Каро О.Х. 130
Фридман В.А. 168, 186
Фролов А.А. 45, 87, 121, 156
Фролова Н.В. 121
Хабибрахманова В.Р. 131
Халилуев М.Р. 122
Хаматдинова Г.И. 132
Хапугин А.А. 59
Хлесткина Е.К. 121
Хлопков А.Д. 146, 216
Холопцева Е.С. 133
Хоцкова Л.В. 187
Хуанг Ш. 86
Хуснетдинова Л.З. 188
Церс И.Д. 152
Цивилева О.М. 191
Цыганов В.Е. 145, 160, 161
Цыганова А.В. 145, 160, 161
Цыдендамбаев В.Д. 91
Чаженгина С.Ю. 189
Черевацкая М.А. 45, 121
Черепанов И. А. 77
Черкашин А.А. 13
Чернобровкина Н.П. 91, 190
Чернова Т.Е. 42
Черныш М.А. 202
Четвериков С.П. 157
Чирва О.В. 98, 134, 170, 204, 211
Чурсина Н.Л. 90
Шаварда А.Л. 113, 154, 181
Шакиров Е.В. 117, 199
Шакирова Ф.М. 10
Шапигузов С.Ю. 13
Шапошников А.И. 45
Шарипова Г.В. 149
Шарипова М.Р. 26, 117
Шатерников А.Н. 191
Шахов З.Н. 15
Шашко А.Ю. 202
Шевелева. И.С. 192
Шелковникова В.Н. 164
Шемберг А.М. 193
Шерстнева О.Н. 216
Шерудило Е.Г. 61, 83, 114
Шестерикова Е.М. 22, 63, 135
Шестеркина И.А. 128
Шестибратов К.А. 150
Шибаева Т.Г. 61, 83, 114, 136
Шилин Б.В. 51
Шишова М.Ф. 52, 154
Шмаков В.Н. 38
Шмаков Н.А. 198
Шугаев А.Г. 40
Шуйская Е.В. 109, 137
Шумилина Ю.С. 45, 87
Шуплецова О.Н. 194

Щекалева О.И. 138
Юдина Л.М. 139, 206, 215
Юдина П.К. 59, 88, 140
Юлдашев Р.А. 10, 12
Юрков А.П. 154
Яковлева Д.В. 195
Яровицкая В.В. 196

Всероссийская научная конференция с международным участием

**«Физиология растений и феномика
как основа современных фитобиотехнологий»**

Годичное собрание
Общества физиологов растений России

Тезисы докладов
(Нижний Новгород, 27-30 сентября 2022 г.)

Техническая редакция и компьютерная верстка: Агеева М.Н.

Художник: Пчёлкин Е.В.