

**Российская академия наук  
Общество физиологов растений России  
Научный Совет по физиологии растений и фотосинтезу РАН  
Учреждение Российской академии наук  
Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН**

**Всероссийский симпозиум  
РАСТЕНИЕ И СТРЕСС  
(Plants under Environmental Stress)**

**09-12 ноября 2010 г**



**ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ**

**Москва – 2010.**

УДК 581.1(063)

Финансирование конференции частично поддержано  
Российским Фондом Фундаментальных Исследований  
(Грант № 10-04-06130).

Редакционная коллегия:  
Вл.В. Кузнецов (отв. редактор), И.Е. Мошков,  
А.В. Демиденко, Л.Д. Кислов

Формат 90×60 <sup>1</sup>/<sub>16</sub>  
Некоммерческое предприятие  
Типография Московской Федерации профсоюзов  
г. Москва, Протопоповский пер., 25.  
Заказ № 548, Тираж 350  
Тел.: (495) 688-66-10, Тел./факс: (495) 688-62-19  
E-mail: mfp-t@ mail.ru.

Рассматриваются физико-химические механизмы выживания и адаптации  
растений к неблагоприятным условиям окружающей среды.

Для физиологов, биохимиков, биотехнологов, молекулярных биологов  
растений, ботаников, экологов.

© Учреждение Российской академии наук  
Институт физиологии растений  
им. К.А. Тимирязева РАН, 2010

Данный сборник содержит тезисы докладов Всероссийского симпозиума «Растение и стресс» (2010 г.). Симпозиум проходил с 9 по 12 ноября 2010 г. в г. Москва на базе Учреждения Российской академии наук Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН (ИФР РАН). Основная часть докладов была посвящена анализу последних достижений в области физиологии, биохимии, молекулярной биологии и биотехнологии растений, обсуждению физико-химических и молекулярных механизмов адаптации растений к неблагоприятным условиям окружающей среды, а также вопросам взаимодействия растение-патоген. Значительное внимание на конференции было уделено перспективам использования экологически безопасных технологий очистки загрязненных территорий с помощью фиторемедиации.

# ОРГКОМИТЕТ КОНФЕРЕНЦИИ

## *Сопредседатели:*

Кузнецов Вл.В., чл.-корр. РАН  
Мошков И.Е., д.б.н.

Москва  
Москва

## *Члены Оргкомитета:*

Аверьянов А.А., д.б.н.  
Балнокин Ю.В., профессор  
Ванюшин Б.Ф., чл.-корр. РАН  
Вартапетян Б.Б., профессор  
Веселов А.П., профессор  
Войников В.К., профессор  
Гамалей Ю.В., чл.-корр. РАН  
Головко Т.К., профессор  
Демиденко А.В., к.б.н.  
Жиров В.К., чл.-корр. РАН  
Журавлев Ю.Н., академик РАН  
Кочетов А.В., к.б.н.  
Лось Д.А., профессор  
Лукаткин А.С., профессор  
Максимов Т.Х., д.б.н.  
Марковская Е.Ф., профессор  
Оводов Ю.С., академик РАН  
Рубин А.Б., чл.-корр. РАН  
Саляев Р.К., чл.-корр. РАН  
Титов А.Ф., чл.-корр. РАН  
Третьяков Н.Н., чл.-корр. РАСХН  
Трунова Т.И., профессор  
Усатов А.В., д.б.н.  
Холодова В.П., к.б.н.  
Хрянин В.Н., профессор  
Цыдендамбаев В.Л., к.б.н.  
Чмора С.Н., к.б.н.,

М. Вязёмы  
Москва  
Москва  
Москва  
Н. Новгород  
Иркутск  
С.-Петербург  
Сыктывкар  
Москва  
Апатиты  
Владивосток  
Новосибирск  
Москва  
Саранск  
Якутск  
Петрозаводск  
Сыктывкар  
Москва  
Иркутск  
Петрозаводск  
Москва  
Москва  
Ростов-на-Дону  
Москва  
Пенза  
Москва  
Москва

ученый секретарь

# **ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ**



## **THE ROLE OF ANTIOXIDANT ENZYMES IN PROTECTIVE ACTION OF 24-EPIBRASSINOLIDE IN WHEAT SEEDLINGS UNDER SALINITY**

Avalbaev A.M., Lubyanova A.R., Yuldashev R.A., Somov K.A., Shakirova F.M.

Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Centre, Russian Academy of Sciences, pr. Oktyabrya 71, 450054 Ufa, tel.: (347)2356088, fax: (347)2356088

Brassinosteroids are steroid plant growth substances which fulfil protective action to various stresses. Unfavourable environment are known to induce an oxidative stress in plants associated with a significant stress-induced generation of reactive oxygen species (ROS) leading to enhancement of lipid peroxidation. The important role in neutralisation of damaging action of oxidative stress belongs to the antioxidant enzymes such as superoxide dismutase (SOD) and peroxidase. Therefore we examined the EB pretreatment on the activity of SOD and peroxidase in wheat seedlings under salinity. Salinity resulted in significant increase both in generation of reactive oxygen species (ROS) and activity of superoxide dismutase (SOD) and peroxidase. We have revealed that EB pretreatment decreased (approximately on 50%) salt-induced ROS generation. This was accompanied by a lesser level of SOD and peroxidase activities in EB-treated wheat seedlings in comparison with untreated plants under salinity. It is necessary to note that EB treatment itself (before stress) induced slight short-term generation of ROS and was accompanied by transit weak increase in activity of SOD and peroxidase. This data might indicate on preadaptative effect of EB on wheat plants in response to salinity-induced oxidative stress and this effect was due to a slight transit increase both in ROS concentration and activity of antioxidant enzymes during pretreatment. During subsequent influence of salinity on EB-pretreated plants this was reflected in decrease of ROS generation, SOD and peroxidase activities in these plants in comparison with untreated. Thus, EB pretreatment promotes attenuation of damaging action of salinity-induced oxidative stress on wheat plants.

This work is supported by Grant RFFI 08-04-01563.

## **AQUAPORIN GENES EXPRESSION UNDER DIFFERENT WATER SUPPLY IN *Sium latifolium* L.**

Bliuma D.

Institute of Botany of NASU, 2, Tereshchenkivska Str., Kyiv, 01601, Ukraine  
E-mail: [dbluma@ukr.net](mailto:dbluma@ukr.net)

Water plays a fundamental role in the plants growth and development. Water and nutrients uptaked by plants via their transport across cell membranes. This process can be disturbed by the influence of unfavourable environmental conditions. Today, it is known that water transport through membranes is provided by membrane proteins which form special water channels – aquaporins. At present, the number of known aquaporins exceeds more then 200, moreover, a considerable part of them are the plant aquaporins. Since water transport across plant cell membranes is provided by aquaporins, the regulation of aquaporins' gene expression at the transcriptional and post-translational levels may be one of the mechanisms of regulation of the intracellular water balance during plant adaptation to varying water supply. The suitable object for studying the water deficit effect on the expression of aquaporin genes is a water parsnip (*Sium latifolium* L). This plant belongs to aerial-aquatic plants, but it is presented by the aerial-aquatic ecotype which grows on a riversides and the terrestrial ecotype which growth at terrestrial areas near the rivers. Terrestrial plants may be affected by some water deficit in contrary to aerial-aquatic ones during development and the investigation of aquaporins genes expression of both ecotypes can lead to understanding of mechanisms of plant adaptation to changes in their water supply. The goal of our investigation was to determine whether water deficit alters aquaporin gene expression in terrestrial plant of *S. latifolium*. The RT-PCR analysis of aquaporin gene expression of the terrestrial and aerial-aquatic plants of *S. latifolium* demonstrated high differences between their expression patterns. Thus, the level of mRNA in the terrestrial plants of *S. latifolium* was much higher in comparison to air-aquatic ones during their development (at the stages of vegetation, flowering and fruitage). According to literature data water deficit has a strong impact on the expression of plant aquaporin genes. There is the evidence that high levels of PIP aquaporin mRNA are associated with high rates of water flow through cells. It was suggested that there is a tight correlation between the change of PIP2 aquaporin transcripts abundance and the motor cell volume changes in leaf-moving organs of plant. We assume that the increased level of aquaporin transcripts in terrestrial plants indicate the presence of the high PIP aquaporin amount in cell membranes. In turn, the increased aquaporin level in membranes enhances the water uptake by plants under water deficit and thus, the water balance in terrestrial plants is maintained at the necessary level under unfavourable conditions.



Diurnal oscillations of PIP transcripts amount of both ecotypes was similar and changed during day-night cycle. The highest level of transcripts observed early in the morning and gradually declined to the end of light period. These results suggest that PIP gene expression is regulated diurnally at transcriptional level and this regulation can be controlled by a biological clock.

## **PANAX (*Panax ginseng* C. A. Mey.) IN SITU AND EX SITU: CONSTITUTIVE TOLERANCE AND STRESS-INDUCIBLE ADAPTATION**

Burundukova O.L.\*, Ivanov L.A.\*\*, Ivanova L.A.\*\*, Makhankov V.V.\*\*\*, Kiselev K.V.\*, Khrolenko Yu.A.\*, Burkovskaya E.V.\*, Lauve L.S\*, Velivetskaya T.A. \*\*\*\*, Ignatiev A.V.\*\*\*\*, Khorosh K.\*\*, Orekhova T. P.\*, Muzarok T.I.\*, Zhuravlev Yu.N.\*

\* Institute of Biology and Soil Science, Stoletiya 159, Vladivostok, Tel.: (4232)339736, Fax: (4232) 310133

\*\* Botanic Garden, Yekaterinburg, 8-March Str., Tel.: (343)2103850, Fax: (343)2608252

\*\*\* Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Stoletiya 159, Vladivostok, Tel.: (4232)31 1430, Fax: (4232) 31 1430

\*\*\*\* Far East Geological Institute, Stoletiya 159, Vladivostok, Tel.: (4232)318750, Fax:(4232) 317847

E-mail: [burundukova@ibss.dvo.ru](mailto:burundukova@ibss.dvo.ru)

*Panax ginseng* is an obligate sciophyte of the Eastern Asian broadleaf forests. It is characterized by large cells, small number of photosynthesizing cells per leaf area unit, low values of membrane indices of the cells ( $A_{mes}/A$ ) and chloroplasts ( $A_{chl}/A$ ). These specific features of photosynthetic apparatus implicate the ginseng to be a plant of stress-tolerant type of ecological strategy.

A domestication was shown to induce essential structural and functional changes at all levels of the phenotype organization. The comparative investigations of ginseng in situ and ex situ were conducted. At the organismic level, donor/acceptor relations and biomass allocation were changed: indices in leaves and roots were lowering, and in fruit indices were raising.

The pronounced development of the mesophyll tissue and increase of  $A_{mes}/A$ ,  $A_{chl}/A$  indices have been observed at the tissue and cell levels of the photosynthetic apparatus organization under the plantation conditions. Carbon isotope discrimination ( $\delta^{13}C$ ) was increasing in the ginseng plants range: wild - collection (wild ginseng replaced from the natural habitat to nursery garden) – agricultural varieties. The results obtained are promising to develop new method to identify wild and plantation ginseng.

The biochemical investigations revealed the content of ginsenosides was higher in leaves of the wild ginseng in comparison with cultivated one. Total

content of 9 basic ginsenosides correlates with the level of DDS and SS genes expression. So, the structural and functional rearrangements in the ginseng phenotype organization testify the shift in the strategy of ginseng adaptation in the plantation conditions. The features of stress-tolerant type ecological strategy were decreasing, while ruderal-competition was increasing. First of all, that is shown in the features, well known for plantation ginseng, i. e. significant accelerating of the growth and development, and life cycle shortening.

So, we suggest, that domestication induces stress and promotes rapid phenoptosis - programmed death of an organism. *Panax ginseng* in situ / ex situ is promising model system for research of mechanism constitutive tolerance (*in situ*) and stress-inducible adaptation (*ex situ*).

## **THE INFLUENCE OF 6-BENZYLAMINOPURINE ON RESPIRATION OF WHEAT SEEDLING ROOTS UNDER SALINITY**

V.V. Fedyaev, A.M. Avalbaev, Z.F. Rahmankulova, F.M. Shakirova

Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Centre, Russian Academy of Sciences, pr. Oktyabrya 71, 450054 Ufa, tel.: (347)2356088, fax: (347)2356088

Cytokinins are plant hormones that have essential role in the regulation of plant growth and development both under normal and adverse environmental conditions. Earlier we have revealed the protective effect of 6-benzylaminopurine (BAP) on the state of hormonal and pro-/antioxidant systems of wheat seedlings under salinity that resulted in decrease of negative action of salt stress on plant growth. This suggests the ability of BAP to influence energy balance of seedlings that is necessary to display its protective effect under stress. With the use of inhibitory analysis we have investigated the functioning of cytochrome oxidase, alternative cyanide resistant and residual pathways of dark respiration in wheat seedling roots which indirectly has allowed to assess the power efficiency of respiration. It was revealed that BAP-treated wheat seedling roots were characterised by the reduced on half energetically less effective alternative cyanide resistant respiration pathway in comparison with the control, and that was accompanied by display of growth stimulating action of hormone. Salinity resulted in appreciable increase of total dark respiration of roots and intensity of glycolysis which probably was due to additional respiratory expenses for plant adaptation and dissipational processes under stress. Also there was twofold enhancement in the level of an alternative respiration pathway under salt stress. The latter, apparently, has essentially great value for plants under stress because of detection of antioxidant activity of cyanide resistant oxidase. Meanwhile, BAP pretreatment prevented salinity-induced increase of total

respiration, considerably decreased the intensity of glycolysis and reduced the level of cyanide resistant respiration pathway to the control level. This data is in accordance with our results about decrease in BAP-pretreated wheat seedlings salinity-induced ROS generation and maintenance of pro-/antioxidant balance and plant growth under salt stress at the level close to the control. These experiments have revealed active participation of alternative oxidase in response of wheat plants to salinity-induced oxidative stress whereas BAP pretreatment promoted decrease in ROS generation. Thus, BAP-pretreated wheat seedlings were characterised by the reduced on half energetically less favourable alternative respiration pathway under salinity. And this, in turn, is a reflexion of protective BAP action on wheat plants under salt stress.

This work is supported by Grant RFFI 08-04-01563.

## **ANTHOCYANINS AS NON-ENZYMATIC ANTIOXIDANTS IN ELODEA PLANTS TREATED WITH CADMIUM AND MANGANESE**

Garmash E.V.<sup>1</sup>, Maleva M.G.<sup>2</sup>, Malec P.<sup>3</sup>, M.N.V. Prasad<sup>4</sup>, Strzalka K.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Institute of Biology, Komi Scientific Centre, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences; Kommunisticheskaya str, 28, 167982 Syktyvkar, tel.: (8212)249687, fax:(8212)240163

<sup>2</sup> M. Gorky Ural State University; Lenin av., 51, 620000 Ekaterinburg, tel.: (343)2616685, fax:(343)3507401

<sup>3</sup> Jagiellonian University; ul. Gronostajowa, 7, 30-387 Krakow, Poland, tel.:+48(12)6646509, fax:+48(12)6646902

<sup>4</sup> University of Hyderabad; Andhra Pradesh, 500046, Hyderabad, India, tel.:+91(40)23011604, fax:+91(40)23010145

E-mail: [garmash@ib.komisc.ru](mailto:garmash@ib.komisc.ru) (Garmash E.V.)

Anthocyanins (Anth) are plant pigments belonging to polyphenol compounds. Foliar anthocyanins are considered to protect plant cells from the oxidative stress by protecting antioxidant enzymes, scavenging free radicals and through interactions with other molecules in stress-related signaling pathways (Larson, 1988; Steyn et al., 2002; Hatier, Gould, 2008). However, the functions of Anth in plants are still far from full understanding. In particular, the knowledge about Anth role in plants exposed to heavy metals is limited (Hale et al., 2001; Glineska et al., 2007). In the present work the effect of the exogenous Anth-enriched extract from red cabbage leaves on the accumulation of superoxide anion radicals ( $O_2^-$ ), antioxidant enzyme activity (SOD, CAT) as well as on the content of photosynthetic pigments and total soluble thiols were studied in

two aquatic macrophytes (*Elodea canadensis* Michx. and *Elodea (Egeria) densa* Planch. Casp.) treated by Cd and Mn.

The incubation of plants for five days in 100  $\mu\text{M}$   $\text{CdSO}_4$  or  $\text{MnSO}_4$  in 5% Hoagland medium decreased the concentration of total chlorophyll in *Elodea* leaves by 50% and 30% respectively. The content of soluble proteins has also decreased (3-10 times in dependence on species). Cd induced stronger oxidative stress in plants, than Mn: the  $\text{O}_2^-$  formation has significantly increased. In turn, protective responses have been observed: the activation of antioxidant enzymes (SOD, CAT) and an increase of total soluble thiol concentration.

Pre-incubation of plants in the medium supplemented with the Anth-enriched extract (100 mg/l) for 24 h resulted in the elevated accumulation of Anth in tissues subsequently subjected to metal treatment. This effect was especially significant under Mn treatment. Moreover, pre-incubation with Anth decreased the content of  $\text{O}_2^-$  in tissues treated with metals, especially with Cd, as well as in control plants. Also, in *Elodea* shoots pre-incubated with Anth the lower levels of both antioxidant enzyme activities and thiol-containing compounds formed in response to metals (mainly Cd) were observed. Interestingly, carotenoid concentration significantly increased in leaves pre-incubated with the Anth-enriched extract and subsequently treated with Cd or Mn. These results indicate that exogenously supplied Anth could reduce toxic effects of elevated doses of heavy metals in aquatic macrophytes. We propose that: i). Foliar Anth may function as free radical scavengers in aquatic plants; ii). Anth might bind ions of polyvalent metals (such as Mn) and form stable metal binding chelates; iii). Exogenous anthocyanins could stimulate biosynthesis of carotenoids as other known cellular antioxidants in plants.

The work was supported by the grant of the Russian President (MK-881.2010.4) and the Russian Ministry of Education and Science (SC P1301 and SC P2364).

## **RESPONSE TO LIGHT STRESS AT THE LEVEL OF PHOTOSYNTHETIC ANTENNA COMPLEX LHCII**

Gruszecki W.I.

Department of Biophysics, Institute of Physics, Maria Curie-Skłodowska University,  
20-031 Lublin, Poland, tel. (48 81) 537 6252, fax. (48 81) 537 61 91  
E-mail: [wieslaw.gruszecki@umcs.pl](mailto:wieslaw.gruszecki@umcs.pl)

Fluent and efficient operation of the photosynthetic apparatus, under strong illumination conditions, is possible owing to the activity of several

regulatory mechanisms, functioning at all the organization levels of a plant, to protect photosynthetic membranes against light-induced oxidative damage. Regulatory mechanisms which operate at the level of a single antenna complex of higher plants, LHCII, will be presented and critically discussed. Among those mechanisms are the light-driven molecular configuration changes of the LHCII-bound xanthophylls, leading to formation of supramolecular structures of the protein, characterized by high rate of thermal dissipation of excessive excitations.

## **VIOLAXANTHIN AND DIADINOXANTHIN CYCLES AS AN IMPORTANT PHOTOPROTECTIVE MECHANISM IN PHOTOSYNTHESIS**

Latowski D.\*, Schaller S.\*\*\*, Jemioła-Rzemińska M.\*, Goss R.\*\*\*, Strzałka K.\*

\* Faculty of Biochemistry, Biophysics and Biotechnology, Jagiellonian University, Gronostajowa 7, 30-387 Krakow, Poland, tel. +48 12 664 65 09, fax: +48 12 664 69 02

\*\* Institute of Biology I, Plant Physiology, University of Leipzig, Johannisallee 21-23, 04103 Leipzig, Germany tel. +49 341 973 68 73, fax: +49 341 973 68 99

E-mail: [kazimierzstrzalka@gmail.com](mailto:kazimierzstrzalka@gmail.com) (Strzałka K.), [latowski@interia.pl](mailto:latowski@interia.pl), [susannschaller@yahoo.de](mailto:susannschaller@yahoo.de), [malgorzata.jemiola@gmail.com](mailto:malgorzata.jemiola@gmail.com), [rgoss@rz.uni-leipzig.de](mailto:rgoss@rz.uni-leipzig.de)

One of the most important photoprotective processes functioning in plants is xanthophyll cycle. The molecular mechanism and regulation of two types of the xanthophyll cycles is discussed. One of them is violaxanthin (Vx) cycle which involves interconversion between Vx, antheraxanthin (Ax) and zeaxanthin (Zx). The second kind of the xanthophyll cycle is diadinoxanthin (Ddx) cycle in which interconversion between Ddx and diatoxanthin (Dtx) occurs.

In the present studies the influence of lipids on the de-epoxidation of the xanthophyll cycle pigment, Vx to Zx as well as Ddx to Dtx was investigated. Experiments on the effect of molecular dynamics of hydrophobic fraction of aggregates formed by inverted micelles, which are necessary for de-epoxidation, on the conversion of Vx into Ax and Zx and Ddx into Dtx were performed. Thickness of the hydrophobic fraction of the aggregates, size of the inverted micelles, suggested by mathematical description of the structures and solubility of Vx and Ddx in various kind of lipids were the next tested parameters. Obtained results show that the rate of de-epoxidation is strongly dependent on physicochemical properties of lipids. The key role for enzyme activation play non-bilayer lipids and the parameters of inverted micelles created by them, such as thickness, molecular dynamics of hydrophobic core and their diameter. Mutual orientation of enzyme and substrate molecules and dilution of pigments by lipids are postulated as main mechanisms to explain the results.

Additionally influence of thylakoid lipids on the de-epoxidation of Vx, associated with the light-harvesting complex of PSII (LHCII) was studied. Analysis of the different LHCII preparations showed that the concentration of LHCII-associated Vx was correlated with the concentration of the main thylakoid lipid monogalactosyldiacylglycerol (MGDG) associated with this complex. Decrease in the MGDG content of the LHCII led to diminished Vx concentration, indicating that a part of the total Vx pool was located in the MGDG phase surrounding the LHCII, whereas another part was bound to the LHCII apoproteins. Besides, almost complete Vx de-epoxidation in the LHCII fractions containing high amounts of endogenous MGDG was observed in *in-vitro* assays with the use of isolated enzyme. LHCII preparations with low concentrations of MGDG exhibited a strongly reduced Vx de-epoxidation, which could be increased by addition of exogenous, pure MGDG.

The presented results show that MGDG and other non-lamellar lipids are necessary for the solubilization of Vx and they provide also the three-dimensional structures, which are needed for the binding of de-epoxidase and for the accessibility of Vx to this enzyme.

This work was supported by project No. 50/N-DFG/2007/0

## **PHOTOPROTECTIVE STRATEGIES IN *Rhodella violacea*: ROLE OF PROTON GRADIENT AND EFFECTS OF LIGHT ACCLIMATION**

Neverov K.V.<sup>1</sup>, Etienne Anne-Lise<sup>2</sup>

<sup>1</sup> A.N.Bach Institute of Biochemistry, Russian Academy of Sciences, Leninsky pros., 33, Moscow 119071 RUSSIA, Tel. (495)939-43-74, Fax (495)954-27-32

<sup>2</sup> Laboratoire de Dynamique des Membranes Vegetales, URA 1810 CNRS, Ecole Normale Supérieure, 46 rue d'Ulm 75230 Paris Cedex 05 FRANCE

E-mail: [neverovk@mail.ru](mailto:neverovk@mail.ru)

Thylakoid membranes of *Rhodophyta* contain large extramembrane complexes – phycobilisomes (PBS) which serve as peripheral antenna for PS 2. Strong light absorbed by the PBSs causes fast formation of the transthylakoid proton gradient ( $\Delta\text{pH}$ ) accompanying the non-photochemical fluorescence quenching of chlorophyll (Chl). The  $\Delta\text{pH}$  build-up is considered to be important for photoprotection of the photosynthetic apparatus in the absence of xanthophyll cycle.

In the frame of the present research we studied the Chl fluorescence quenching in unicellular red algae *Rhodella violacea* and its correlation to

the formation of the  $\Delta\text{pH}$  gradient. The relations of these phenomena to PS 2 photoprotection in the normal *Rhodella* cells and ones acclimated to strong light were examined.

Chl fluorescence induction curves were measured using fluorimeter with 200 ns time resolution. LED provided exciting green light absorbed by B-phycoerythrin (B-PE) in PBSs. Variable Chl fluorescence was detected by PAM Chl Fluorometer (Walz) combined with  $\text{O}_2$  electrode for PS 2 activity monitoring.

The  $\Delta\text{pH}$  -dependent Chl fluorescence quenching appeared in 1 sec after light was turned on and developed for 80-100 s under continuous illumination. This quenching could be also induced by light flashes (1000-2000  $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}$ , 0,5-1 s duration) and disappeared in 10-15 min in the dark. Under photoinhibitory conditions (2000-3000  $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}$ ), the  $\Delta\text{pH}$ -dependent Chl fluorescence quenching was found to delay the kinetics of PS 2 photoinhibition (PI). The uncouplers like nigericin and  $\text{NH}_4\text{Cl}$  known to break down the  $\Delta\text{pH}$  gradient caused the dissipation of Chl fluorescence quenching and enhanced the PI of PS 2. In contrast, DCCD known as ATPase inhibitor not affecting  $\Delta\text{pH}$  did not change PI kinetics what points the photoprotective role to be played namely by the proton gradient rather than ATP synthesis. It was also found that far-red light (FR,  $710 < \lambda < 760$  nm) efficiently eliminates the light flash-induced Chl fluorescence quenching likely via dissipation of the  $\Delta\text{pH}$ . In agreement with the above hypothesis FR accelerated PS 2 PI rates in *Rhodella* suspensions. Light adaptation of *Rhodella* to higher irradiances (growth at 500-1000  $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}$  instead of 40  $\Delta\text{E}/\text{m}^2\text{s}$ ) was accompanied by the partial loss of the phycoerythrin-containing subunits by PBSs reducing the effective antenna size of PS 2. This enhanced resistance of these cultures to the photoinhibitory light obviously because of less energy transfer from PBS to PS 2.

The obtained data allow to conclude that the capabilities of the proton gradient and Chl fluorescence quenching to protect PS 2 in *Rhodella violacea* against light stress are strongly dependent on the structural properties of its thylakoid membranes.

## **DEFENSIN GENE EXPRESSION IN WINTER WHEAT SEEDLINGS UNDER *Pseudocercospora herpotrichoides* (Fron) Deighton INFECTION**

Paniuta O.O.<sup>‡</sup>, Belava V.N.<sup>\*</sup>, Zeleniy S.B.<sup>\*\*</sup>, Taran N.Yu.<sup>\*</sup>

<sup>\*</sup> T. Shevchenko National University of Kyiv; 60 Volodymyrska Str., Kyiv, 01601, Ukraine, tel.: (044)5221427, fax: (044)5213598

<sup>\*\*</sup> R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology, and Radiobiology NAS of Ukraine; 45 Vasylykivska Str., Kyiv, 03022, Ukraine, tel.: (044)2590183, fax: (044)2581656

E-mail: [panyuta@ukr.net](mailto:panyuta@ukr.net) (Paniuta O.O.)

Plant defensins are minor peptides, micromolar concentrations of which demonstrate antimicrobial activity against wide spectrum of phytopathogenic fungi. Experimental data bring evidence to the expression of plant defensin genes in response to fungal attack which increases plants resistance to pathogenic agents.

The aim of our work was to study the dynamics of defensin gene expression in the formation of immune response in winter wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.) under *Pseudocercospora herpotrichoides* (Fron) Deighton infection.

Winter wheat seedlings of susceptible to *P. herpotrichoides* cultivar Mironivska 808 and seedlings of comparatively resistant cultivar Roazon were infected by fungal conidia suspension with initial titre  $(5-7) \cdot 10^4$  conidia/ml. The expression of defensin gene (*Tad1*) was determined using RT-PCR. The level of transcripts was determined every 1.5 hour (for 6 hours).

Decrease of defensin mRNA was established in control seedlings of the sensitive cultivar Mironivska 808. Under infection a considerable decrease (4-fold) of defensin mRNA was observed 1.5 hour later, then it gradually increased. But even 6 hours after infecting it was 3 times lower than the initial level. Probably, it is the result of the inhibiting effect of pathogen immunosuppressors on the expression of defensin gene.

In the control seedlings of the resistant cultivar Roazon no decrease in the number of transcripts was observed, on the contrary, insignificant increase was determined. Under infection a double decrease of mRNA amount in the seedlings of the resistant cultivar was established, but the rate of restoring mRNA level was twice higher than those for the sensitive cultivar. Probably, the rate of restoring the capability to express genes of protective proteins is one of indices, determining the degree of cultivar resistance.

The comparison of results on accumulation of defensin mRNA in wheat seedlings of sensitive and comparatively resistant cultivars testifies to the fact that the character of changes in this index remains the same for cultivars,



different in their resistance, both in control and in infection. However, the boundaries and fluctuations of absolute values for the sensitive cultivar are broader than those for the comparatively resistant one. Probably the inability to support constantly high level of the protective genes expression influences negative on cultivar resistance.

The changes and differences of defensin mRNA content in wheat seedlings of cultivars, different in their resistance under *P. herpotrichoides* infection characterize these proteins as a vital constituent in the formation of adaptive reactions to pathogenesis.

## **NICKEL PHYTOREMEDIATION POTENTIAL FOR *Amaranthus cruentus* L. PLANTS. Ni/Fe ANTAGONISM AND MECHANISMS OF Ni DETOXICATION**

Shevyakova N., Cheremisina A., Kuznetsov VI.

Timiriazev Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Sciences;  
Botanicheskaya st., 35, 127276, Moscow, tel. (499)2318355, fax (495)9778018

The damaging effect of nickel on the growth of plant *Amaranthus cruentus* was manifested as dose-dependent reduction of the accumulation of shoots biomass in 6 days of plant cultivation in the presence of 50-250  $\mu\text{M}$   $\text{NiCl}_2$  in rooting media. One of physiological reasons in the decrease of *Amaranthus* plant biomass was resulted in sharp drop in water content in leaves or roots under Ni accumulation. It was shown that Ni stimulated the rapid accumulation of proline, one of the most important osmolites found in plant. Leaves spraying with exogenous proline markedly stabilized plant water status under Ni accumulation. The highest Ni concentration (1000  $\mu\text{g/g}^{-1}$  DW) in shoots was observed in the range between 100 and 150  $\mu\text{M}$   $\text{NiCl}_2$  in media. Under these conditions Ni accumulation observed in young leaves interferes with iron deficiency that was accompanied by development of leaf necrotic spots and with the decline in Fe content. It is known, that Fe-deficiency led to decreases in stomatal opening, transpiration rate and water use efficiency (Larby et al. 2006).

The increased sensitivity to iron deficiency in many plants – a phenomenon of Ni /Fe antagonism – could develop due to several reasons: 1) inhibition of FRO2 activity in roots, thus preventing restoration of  $\text{Fe}^{3+}$  to  $\text{Fe}^{2+}$  that it is necessary for iron transporters because high Ni concentration may increase the content of oxygen and hydroxyl radicals in plants or (2) lower supply of chelators for iron transport in xylem exudates. All these negative factors enhance Ni toxicity for plants, thus decreasing their phytoremediation potential.

In this study, we made an attempt to investigate possible mechanisms of development of Ni/Fe antagonism. 1) We demonstrated that spraying leaves

with polyamine putrescine (1 mM) markedly reduced the toxic Ni effect on plant growth and simultaneously increased the Ni content in aboveground biomass. This is an important qualitative characteristic of the phytoremediation potential of plants. The data obtained open a possibility to develop a technology for using amaranthus for purification of soil from Ni. 2) We propose that the nickel-induced oxidative stress (increased activity SOD and intensity of POL) and the accumulation of byproducts of oxidative degradation of polyamines such as 1.3-DAP can be harmful for the activity of root chelate reductase (FRO2) and iron transporter that may influence nickel accumulation in plants.

## **RESPONSE OF ANTIOXIDANT SYSTEM IN TROPICAL MARINE ALGA *AHNFELTIOPSIS FLABELLIFORMIS* TO THERMAL STRESS**

Yakovleva I.M., Skriptsova A.V.

A.V. Zhirmunsky Institute of Marine Biology, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Palchevskogo, 17, 690041 Vladivostok, tel.: (4232)310931, fax: (4232)310900

E-mail: yakovleva72@mail.ru

Short-term increases in temperatures above 30°C have been shown to induce coral bleaching episodes, but information on how these thermal events affect physiology of tropical macroalgae has rarely been described. Using short-term laboratory experiments, we examined the thermal stress antioxidant responses of the sterile and fertile forms of *Ahnfeltiopsis flabelliformis* (Rhodophyta) from southern Vietnam. Plants were exposed to heat stress (32°C) for 12 h when  $H_2O_2$  and  $O_2^-$  levels along with membrane injury index, photosynthetic activity ( $P_{max}$ ), and changes in antioxidants were measured. Compared to the control (26°C), MDA concentration increased significantly in both forms of *A. flabelliformis* during 12 h at 32°C, while fertile form of the alga showed far higher MDA values than sterile form. After 6 and 12 h at 32°C, fertile plants showed a significantly more pronounced decline in  $P_{max}$  compared to sterile plants. During 6 h at 32°C, antioxidant enzyme activities, such as SOD, CAT and APX, were stimulated and antioxidants (AsA and GSH) maintained high content, which resulted in relatively low levels of  $O_2^-$  and  $H_2O_2$  in both algal forms. When exposure was prolonged to 12 h, SOD activities and GSH concentration of fertile *A. flabelliformis* were similar to the controls, while its APX, CAT activities and AsA concentration showed a 3-fold decrease, concomitant with pronounced increase in  $O_2^-$  and  $H_2O_2$ . In sterile *A. flabelliformis*, a 12 h exposure at 32°C lead to significant decrease in MDA and  $H_2O_2$  levels at the background of continues increases in the activity of

antioxidant enzymes and in high content of antioxidants. Thus, *A. flabelliformis* is able to tolerate thermal disturbances (up to 32°C). Its oxidative damage induced by heat stress is related to the changes in antioxidant enzyme activities and antioxidants. It is suggested that oxidative stress susceptibility of tropical macroalgae may be a physiological cost of reproduction.

## **ВЗАИМОЗАВИСИМОСТЬ ПАРАМЕТРОВ АНТИОКСИДАНТНЫХ СИСТЕМ В ТКАНЯХ И МИТОХОНДРИЯХ *IN VITRO* ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ ПРИ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОЙ АДАПТАЦИИ**

Абдрахимова Й.Р., Тимофеева М.Г., Вильданова А.Р.

Казанский (Поволжский) Федеральный университет; ул. Кремлевская, 18, 420008 Казань, тел.: (843)2360861, факс: (843)2387121

E-mail: [yoldez@mail.ru](mailto:yoldez@mail.ru) (Абдрахимовой Й.Р.)

Стрессовые воздействия различной природы интенсифицируют образование активных форм кислорода (АФК), которые, играя множественную физиологическую роль, могут приводить к гибели клеток. В темноте или нефотосинтезирующих тканях основным источником генерации АФК являются митохондрии. Целью работы было выявление динамики и взаимосвязи изменений некоторых характеристик антиоксидантного статуса тканей и выделенных из них митохондрий этиолированных проростков в процессе холодовой адаптации (3-4°C, от 30 мин до 3 сут). Объектом исследований служили побеги (колеоптили+зародышевые листья) яровой (сорт Керба) и озимой (Мионовская 808, Казанская 285) форм пшеницы *Triticum aestivum* L. в период прорастания семян в темноте. Холодовое воздействие (3 сут) приводило к снижению выхода электролитов из образцов, в разной степени для изучаемых сортов, на фоне тестирующего промораживания (-15°C, 2ч) и без него, что может служить доказательством способности быстро растущих этиолированных проростков пшеницы адаптироваться к низким температурам.

Холод-индуцированные изменения содержания  $H_2O_2$  в тканях проростков как ярового, так и озимых сортов имели сходный фазный характер с заметным (до 2 раз) увеличением к 3 суткам гипотермии и были более тесно взаимосвязаны с активностью каталазы ( $r=+0.6$ ), чем с другими изучаемыми параметрами. Время начала регистрации статистически значимого изменения содержания  $H_2O_2$  прямо коррелировало со степенью терморезистентности проростков, повышаясь в ряду: Керба → Мионовская 808 → Казанская 285. Активность аскорбатпероксидазы и

содержание аскорбиновой кислоты также проявляли среднюю степень взаимозависимости изменений ( $r=+0.5$ ), но к 3 сут гипотермии не увеличивались по сравнению с контрольным вариантом за исключением сорта Мироновская 808. Интересен факт наличия достаточно высокой положительной корреляции ( $r=+0.7$ ) между содержанием аскорбиновой кислоты и активностью каталазы у озимых сортов и его отсутствие у ярового сорта, что может иметь диагностическое значение.

Митохондрии, выделенные из этиолированных проростков Мироновской 808, характеризовались практически отсутствием активности каталазы, но более высокой (почти в 4 раза) активностью аскорбатпероксидазы по сравнению с таковой тканей. Гипотермия вызывала увеличение содержания всех изучаемых параметров, особенно заметное в случае  $H_2O_2$  – в 7 раз по сравнению с контролем. Полученные данные свидетельствуют об увеличении вклада митохондрий в образование АФК при гипотермии, которое может компенсироваться усилением собственной и немитохондриальной антиоксидантных систем.

### **ДЕЙСТВИЕ СУЛЬФАТОВ МЕДИ И ЦИНКА НА КУЛЬТИВИРУЕМЫЕ *in vitro* ОРГАНЫ АКАЦИИ ЛЕНКОРАНСКОЙ (*Albizzia julibrissin Durazz*)**

Абдулкадырова П.Э., Алиева З.М.

Дагестанский Государственный Университет, ул. М.Гаджиева, 43а, 367000, Махачкала, тел.: (8722) 68-23-26, факс: (8722) 68-23-26

E-mail: [patimatbio@mail.ru](mailto:patimatbio@mail.ru), [zalieva@mail.ru](mailto:zalieva@mail.ru)

В настоящее время возникла необходимость быстрой оценки устойчивости к действию тяжелых металлов (ТМ) разных видов растений, особенно древесных, которая может производится с использованием культивируемых *in vitro* тканей и органов, что делает ее более быстрой. В данной работе метод культуры *in vitro* использован при оценке действия широкого диапазона концентраций сульфатов меди (1-8 мг/л) и цинка (2-16 мг/л) на растения акации ленкоранской (*Albizzia julibrissin Durazz*). Экспланты гипокотилей (ЭГ), семядолей (ЭС), корней (ЭК) и изолированные верхушечные почки брали с 10-дн. проростков или взрослых растений и культивировали на среде Мурасиге-Скуга с добавлением ИМК и БАП (по 2,5 мг/л), а также  $CuSO_4$  и  $ZnSO_4$  в разных концентрациях и комбинациях. Все экспланты как надземных, так и подземных органов акации обладали высокой жизнеспособностью и каллусообразованием в условиях *in vitro*. В каллусной ткани, образовавшейся на ЭС и ЭГ, на 30-35 сутки опыта

наблюдалась закладка почек. Наиболее активно формировали каллус ЭЖ, почки – ЭГ. Показатели жизнеспособности эксплантов разнонаправлено изменялись при добавлении разных концентраций Cu и Zn. Так, установлены стимулирующие (1-2 мг/л) и пороговые (8-16 мг/л) дозы обеих солей, показано, что медь оказывает более выраженное токсическое действие на все экспланты. Выявлена высокая мозаичность в реакции различных эксплантов на стресс, особенно в области высоких концентраций солей. Следует отметить, что при действии низких концентраций солей (до 2 мг/л), наблюдалось снижение биомассы каллусных тканей, а общая выживаемость эксплантов оставалась высокой, происходила стимуляция их роста, возрастало количество эксплантов, сформировавших каллус. При добавлении высоких концентраций последний показатель снижался незначительно, но подавлялись закладка почек и накопление биомассы каллусной ткани, наблюдалось накопление в тканях пролина (особенно интенсивное – у эксплантов семядолей). Повышенное содержание сульфатов меди и цинка в среде культивирования приводило к резкому, особенно у корней, возрастанию содержания ионов Cu и Zn в каллусных тканях. Во всех эксплантах и каллусах ионы меди накапливались в большем количестве, чем цинка. Экспланты корней проявили в целом более высокую устойчивость, так как даже при самом интенсивном, по сравнению с другими эксплантами, накоплении ионов TM, у них в меньшей степени снижалось накопление биомассы каллусной ткани. Таким образом, экспланты акации в культуре *in vitro* проявили высокую жизнеспособность, активно формировали каллус и почки. Введение в среду культивирования сульфатов меди и цинка снижало интенсивность накопления биомассы каллусной ткани (особенно сильно у эксплантов гипокотилей), и образования почек, приводило к накоплению в тканях пролина и повышению содержания ионов Cu и Zn (у эксплантов корней).

## **ВЛИЯНИЕ КСЕНОБИОТИКОВ НА КУЛЬТУРНЫЕ РАСТЕНИЯ И ИХ ОТДЕЛЕННЫЕ ОРГАНЫ**

Абдурахманов А.А., Алиева З.М., Омарова З.А.

Дагестанский Государственный Университет; ул. М.Гаджиева, 43а, 367000, Махачкала, тел.: (8722) 68-23-26, факс: (8722) 68-23-26

E-mail: z\_abakarova@mail.ru, zalieva@mail.ru

Интенсивность применения различных новых химикатов, чужеродных для живых организмов (ксенобиотиков), постоянно нарастает. Это даже

привело к формированию в 20 в. науки – ксенобиологии, включающей, в частности, ксенофитофизиологию, которая изучает процессы жизнедеятельности и функции растений на всем протяжении их развития в условиях действия ксенобиотиков. В связи с постоянным ростом накопления ксенобиотиков в почве и влияния на растения необходимой становится конкретизация действия ксенобиотиков на культурные растения и разработка экспресс – методов оценки их действия. Поскольку многие ксенобиотики, используемые против болезней и вредителей, токсичны и для растений, нами были изучены эффекты их действия на всхожесть семян, рост проростков и регенерацию изолированных органов в нестерильных условиях или *in vitro* у ряда культурных растений (огурцы, кабачки, фасоль, арбузы, томат). Действие ксенобиотиков (дециса, цимбуша, 2,4-Д, медного купороса, диэтилдителиэката натрия и одоракса) оценивали также по содержанию пигментов пластид и показателей водообмена. Чувствительность разных объектов и моделей неодинакова, она не совпадала при оценке разных показателей. Степень ингибирования процессов жизнедеятельности зависела от вида и органа растений, дозы и способа введения ксенобиотика. Заметно токсичны для изученных структур растворы медного купороса (10-50 мг/л), цимбуша (8 мг/л), 2,4-Д (10 мг/л) и частично диэтилдителиэката натрия (10 мг/л). При этом отмечено ингибирование процессов роста и морфогенеза, накопления биомассы. У изолированных листьев и семядолей отмечено снижение содержания пигментов пластид и заметное возрастание доли свободной воды по сравнению со связанной, наблюдалось развитие некротических пятен. При действии концентраций дециса, приводящих к накоплению связанной воды в тканях (10 мг/л), у листьев и семядолей наблюдалось некоторое повышение ризогенной активности и продолжительности жизни (ПЖ). Особенно чувствительным к ксенобиотикам у проростков и их изолированных органов оказался такой показатель, как ризогенез, а при культивировании *in vitro* – также и интенсивность накопления биомассы каллуса. Обработка семян растворами ксенобиотиков вызывала не только подавление всхожести и удлинение сроков прорастания семян, но и подавление роста надземных и подземных структур у проростков и нарушение морфогенеза корней и листьев. Корни и побеги, несмотря на активный рост, изменялись морфологически, скручивались, на семядолях обнаруживались некротические пятна. В целом следует отметить, что изолированные органы растений, как в нестерильной культуре, так и *in vitro*, оказываются удобными и перспективными для экспресс-оценки и прогнозирования эффектов действия ксенобиотиков на растения.

## **ВЛИЯНИЕ *BACILLUS SUBTILIS* 26D И САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ К СЕПТОРИОЗУ**

Абизгильдина Р.Р., Бурханова Г.Ф., Максимов И.В.

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, пр. Октября 71, 450054 Уфа, тел. (факс): (347)235-60-88

E-mail: [phyto@anrb.ru](mailto:phyto@anrb.ru) (Максимову И.В.), [abizregina@mail.ru](mailto:abizregina@mail.ru) (Абизгильдиной Р.Р.)

Стратегия растения в условиях биотического стресса состоит в том, чтобы изолировать патоген, подвергнуть его атаке фитоалексинами, гидролитическими ферментами и АФК, механически упрочнить свою клеточную стенку отложениями каллозы и лигнина и запустить экспрессию генов защитных белков. В связи с этим актуальными становятся исследования, направленные на изучение молекулярных механизмов формирования устойчивости растений к патогенам и поиск различных соединений, индуцирующих иммунный ответ. При этом эндогенные сигнальные молекулы, такие как жасмоновая и салициловая кислоты, окись азота, перекись водорода, определяют формирование специфической ответной реакции клеток на различные химические и физические воздействия. Эндофитные формы микроорганизмов, в том числе *B. subtilis* 26D, способны запускать экспрессию защитных белков, среди которых активно обсуждается роль пероксидаз. Этот фермент важен для защиты растения от вредного воздействия АФК. Кроме этого пероксидаза катализирует процессы полимеризации фенольных соединений в недеградируемые гидролазами патогена лигнин, суберин и кутин. Однако до сих пор не установлена роль отдельных ее изоферментов в ответ на инфицирование. В связи с этим значительный интерес представляет работы по определению роли сигнальных молекул в сочетании с клетками *B. subtilis* 26D на устойчивость растений пшеницы к септориозу, а также способность повышать транскрипционную активность патоген-индуцируемых пероксидаз. В данной работе анализировали семи суточные проростки пшеницы *T. aestivum* L., отрезки листьев которых инокулировали суспензией пикноспор *S. nodorum* из расчета  $10^6$  спор/мл. Салициловую кислоту в концентрации 0.05 мМ, бактериальные клетки *B. subtilis* 26D из расчета  $10^8$  клеток/мл, а также их композиции использовали для замачивания семян пшеницы. Анализировали степень поражения патогеном, активность пероксидазы и транскрипционную активность гена анионной изопероксидазы. Салициловая кислота, также как и бактериальный штамм приводили в отдельности к повышению устойчивости пшеницы к септориозу.

В то же время композиция салициловая кислота + *B. subtilis* 26D проявила слабую эффективность, что коррелирует с экспрессией гена, кодирующего анионную изопероксидазу, и активностью этого фермента. Итак, если в отдельности салициловая кислота и бактерия *B. subtilis* 26D активировали защитные реакции, то в композиции наблюдалась интерференция их эффектов, подобно таковому между салициловой и жасмоновой кислотами.

Работа поддержана грантами Минобрнауки «Научные научно-педагогические кадры инновационной России» П339 и АВЦП «Развитие научного потенциала высшей школы» №2.1.1./5676.

## **ВЛИЯНИЕ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА УСТОЙЧИВОСТЬ ПРОРОСТКОВ ОГУРЦА К ИОНАМ НАТРИЯ И КАЛИЯ**

Абилова Г.А.

Дагестанский государственный университет, биологический факультет; ул. Батырая 4, 367000 Махачкала, тел.: (8722)636884

E-mail: [gulyaraabilova@mail.ru](mailto:gulyaraabilova@mail.ru) (Абиловой Г.А.)

Ионы натрия и калия сходны по структуре, химическим и физическим свойствам. Однако калий является необходимым элементом минерального питания и нетоксичен для растений даже в высоких концентрациях, а натрий – это основной катион, засоляющий почву и оказывающий вредное действие на растение. Ответной реакцией растительных клеток на засоление является изменение окислительно-восстановительных процессов в тканях, сопровождающихся генерацией активных форм кислорода (АФК). Важная роль в предотвращении негативного действия засоления принадлежит салициловой кислоте (СК), которое включает в себя влияние на активность перекисного окисления липидов (ПОЛ) и активность антиоксидантной (АО) системы.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния СК на показатели окислительного и осмотического стресса при засолении ионами натрия и калия у растений огурца. В качестве объекта исследования использовали семядольные листья 10-дневных проростков огурца, выращенные на 50 мМ растворе NaCl или KCl с добавлением 0,5 мМ СК. Контролем служили растения, выращенные на дистиллированной воде. Об уровне окислительного стресса судили по накоплению продукта перекисного окисления липидов (ПОЛ) малонового диальдегида (МДА),



об интенсивности АО-системы – по накоплению низкомолекулярного осмопротектора пролина и определению активности АО-ферментов – супероксиддисмутазы (СОД) и гваяколовой пероксидазы (ПО).

Установлено, что СК вызывает в проростках огурца при засолении ионами натрия окислительный стресс, выявленный по накоплению МДА и усилению активности ПО. Существенное и в большей степени выраженное в присутствии СК возрастание уровня одного из ключевых осмопротекторов пролина во всех сериях опыта свидетельствует о том, что ионы натрия и калия вызывают в проростках как осмотический, так и окислительный стресс. Между содержанием пролина и активностью СОД выявлена обратно пропорциональная зависимость, особенно четко выраженная в присутствии СК. Возможно, высокий уровень пролина и высокая активность ПО компенсировали низкую активность СОД при засолении.

В работе обсуждаются возможные механизмы влияния засоления среды и СК на окислительный стресс в проростках огурца.

## **ИЗМЕНЕНИЯ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ РАСТЕНИЙ МАНДАРИНА ПОД ВЛИЯНИЕМ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ФАКТОРОВ СРЕДЫ**

Абильфазова Ю.С.

ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт цветоводства и субтропических культур Россельхозакадемии, ул. Я.Фабрициуса 2/28, 354002, Сочи, тел.: 8 (906)43-64-302

E-mail: *Citrus\_Sochi@mail.ru*

Южная зона России находится на переходной границе возможного возделывания тепло- и влаголюбивых citrusовых насаждений. Длительные засушливые периоды, влажность и высокая солнечная активность приводят к ослаблению адаптивных возможностей растения, что ведет к снижению урожая и ухудшению качества продукции, а зачастую и к гибели растений. Для значительного ослабления эффекта повреждающих факторов необходимо выявление диагностических показателей устойчивости растений, что позволит оценить физиологическое состояние растений и даст возможность подбора наиболее адаптированных сортов и гибридов карликового мандарина среди существующего сортимента. Лабораторно-полевые опыты заложены на базе института, схема состоит из 6 сортов и 2 гибридов: с. Миагава-Васэ (St.); с. Уншиу; с. Слава Вавилова; с. Юбилейный; с. Сентябрьский; с. Кодорский; гибрид 16939 (Миагава-Васэ x Натсу); гибрид

16954 (Миагава-Васэ х Юка). Исследования проводятся с использованием классических методик. Объектом исследования являются листья. Цель данной работы является выявление наиболее пластичных и устойчивых сортов и гибридов мандарина в условиях влажных субтропиков России. Задачи: определение водного режима и толщины листовых пластинок; изучение активности фермента каталазы.

Отмечено, что водно-температурный режим (июнь–август) способствовал высокой ферментативной активности каталазы мандарина от 500 мл  $O_2$ /г до 761 мл  $O_2$ /г на сортах Уншиу и Сентябрьский (в сравнении с контрольным сортом Миагава-Васэ 367 мл  $O_2$ /г). Получены значительные сортовые различия, которые свидетельствуют об интенсивности метаболизма растений в соответствии с изменениями окружающей среды. Данные водного режима в неблагоприятный по водообеспеченности период показали несущественную разницу внутри испытуемых растений, где водный дефицит листьев колебался от 8,2% до 15,3% до и после засухи. Существенную роль в диагностике функционального состояния растений играет анализ толщины листовой пластинки. Наименьшая потеря тургора установлена на гибриде 16954 и с. Кодорский до 0,310 мм в сравнении с контролем Миагава-Васэ – 0,280 мм, которая является коэффициентом стабильности признака засухоустойчивости к изменениям природной среды. По результатам исследований выявлены некоторые особенности реакции растений мандарина на стресс факторы: цитрусовые отличались устойчивостью к стрессу, имели высокую активность фермента каталазы, низкий водный дефицит и незначительную потерю тургора листовых пластинок относительно контроля, что впоследствии обусловило достаточно высокую сохранность листового аппарата, соответственно повышенную жизнеспособность культуры мандарина.

## **ВЛИЯНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА НА ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ ИНФЕКЦИОННЫХ СТРУКТУР ВОЗБУДИТЕЛЯ МУЧНИСТОЙ РОСЫ ПШЕНИЦЫ**

Аветисян Г.А.

Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН;  
ул. Ботаническая 4, 127276 Москва, тел.: (495)9778000, факс: (495) 9779172.  
E-mail: AvetisyanG@yandex.ru

Изучали влияние окислительного стресса на развитие возбудителя мучнистой росы пшеницы *Erysiphe graminis* f.sp. *tritici* March. Окислительный стресс моделировали обработкой отделенных листьев пшеницы экзогенной перекисью водорода. Показано, что обработка листьев пшеницы перекисью

водорода регулирует направление роста инфекционных структур патогена.

После заражения, инфицированные отделенные листья пшеницы погружали базальной частью в растворы перекиси водорода. Интактные нефиксированные образцы листьев исследовали с использованием сканирующего электронного микроскопа LEO-1430VP (Carl Zeiss, Германия) при  $-30^{\circ}\text{C}$  с использованием замораживающей приставки Deben UK (Великобритания).

Конидии мучнисторосяного патогена, попадая на эпидермальные клетки листьев растения, прорастали первичной ростковой трубкой и аппрессориальной ростковой трубкой, формирующей аппрессорий в течение 24-48 ч после инокуляции. К концу данного периода внутри клетки эпидермиса растения-хозяина образуется гаустория, служащая для поглощения питательных веществ и их транспорта в растущие гифы мицелия. Известно, что только небольшая доля конидий патогена, попадающая на лист восприимчивого растения, в конечном счете, образует колонии. Предполагается, что направление роста первичных инфекционных структур имеет адаптивное значение и происходит в сторону предположительного нахождения клетки в благоприятном для патогена физиологическом состоянии. Наиболее эффективная стратегия развития патогена состоит в росте аппрессориев в направлении вдоль длинной оси клетки и образовании вторичных гаусторий в той же клетке растения-хозяина. При неблагоприятном первичном контакте вероятность нахождения восприимчивой клетки может быть больше в направлении роста аппрессориев поперек антиклинальных стенок.

Известно, что обработка перекисью водорода вызывает изменение физиологического состояния растения и индуцирует устойчивость к патогену. В наших экспериментах действие перекиси водорода приводило к достоверному уменьшению доли аппрессориев, растущих в продольном направлении и относительному увеличению доли аппрессориев, растущих в поперечном направлении.

Наблюдения показывают, что обработка перекисью водорода вызывает снижение числа колоний возбудителя мучнистой росы. Это может свидетельствовать об уменьшении доли клеток, восприимчивых к патогену. Можно предположить, что уменьшение числа таких клеток будет приводить к увеличению вероятности неблагоприятного для патогена первого контакта растения с клеткой растения-хозяина, и, следовательно, к увеличению вероятности поперечного роста. Таким образом, обнаруженное нами воздействие перекиси водорода на направление роста первичных инфекционных структур возбудителя мучнистой росы, по-видимому, является следствием ее участия в защитных процессах.

## **МОДИФИКАЦИЯ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫМИ АЗОТИСТЫМИ КАТАБОЛИТАМИ ДЕЙСТВИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА РАСТЕНИЯ**

Азарин К.В., Усатов А.В.

Научно-исследовательский институт биологии ЮФУ;  
просп. Стачки 194/1, 3440960 Ростов-на-Дону, тел.: (863)2433394

E-mail: [azkir@rambler.ru](mailto:azkir@rambler.ru) (Азарину К.В.)

Общим следствием действия большинства экстремальных факторов среды на растения (Polle and Rennenberg, 1993), в том числе и таких широко распространенных как тяжелые металлы (Flora et al., 2008; Liu et al., 2009), является повышение внутриклеточной концентрации активных форм кислорода (АФК). Следовательно, один из способов, снижения негативных эффектов тяжелых металлов, может быть реализован через систему экзогенных природных антиоксидантов. В работе исследовали модификацию низкомолекулярными азотистыми катаболитами – аллантином и мочевой кислотой негативных эффектов солей тяжелых металлов ( $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ) на растения горчицы (сорт «Донская-5») и подсолнечника (инбредная линия 3629).

Урастений горчицы и подсолнечника, в среде, содержащей тяжелые металлы ( $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ), в зависимости от их концентрации, происходит снижение всхожести и скорости прорастания семян. Так, например, при концентрации сульфата меди 50 мкМ длина корешков горчицы относительно контроля составила 37%. А увеличение концентрации токсиканта до 1000 мкМ привело к еще большему снижению данного показателя (12% относительно контроля). Проращивание семян горчицы в присутствии соли меди в концентрации 50 мкМ и аллантина в концентрации  $10^{-3}$  М увеличивает длину корешков с 37% от контроля (в присутствии только меди) до 86% относительно контроля. Более того, внесение урата в концентрации  $10^{-3}$  М полностью нивелирует токсические процессы, вызванные воздействием меди. Сходные результаты показаны и для подсолнечника. В данных концентрационных соотношениях аллантин и урат также восстанавливают всхожесть семян горчицы и подсолнечника при действии сульфата меди и кадмия. Анализ уровня хемилюминесценции в корешках семян горчицы и подсолнечника свидетельствует, что действие тяжёлых металлов в исследованных концентрациях, приводит к значительному повышению показателей максимальной интенсивности быстрой вспышки и светосуммы хемилюминесценции. Наибольшие значения быстрой вспышки (в 3 раза выше, чем в контрольной группе) и светосуммы (в 2,5 раза выше, чем в контрольной группе) хемилюминесценции были получены при воздействии на семена горчицы сульфата меди. Аллантин и урат достоверно снижали

повышение хемилюминесценции, индуцированное действием тяжелых металлов.

Таким образом, аллантион и урат в концентрациях  $10^{-4}$ - $10^{-3}$  М значительно снижают негативное действие тяжелых металлов ( $Cd^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$  и  $Cu^{2+}$ ) на растения, что выражается в приближении к контрольным значениям показателей выживаемости, скорости прорастания семян и интенсивности  $H_2O_2$ -люминол-индуцированной хемилюминесценции.

Исследование поддержано грантом № 2.1.1/4947 Министерства образования и науки РФ («Развитие научного потенциала ВШ (2009-2010)»).

## **УЧАСТИЕ ИОНОВ $Ca^{2+}$ , $Cl^-$ И $H^+$ В ГЕНЕРАЦИИ ВАРИАБЕЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА У ПРОРОСТКОВ ТЫКВЫ (*Cucurbita pepo*)**

Акинчиц Е.К., Орлова Л.А., Неруш В.Н., Воденеев В.А.

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского;  
пр. Гагарина 23, 603950 г. Нижний Новгород, тел.: 8(831)4654390, факс: 8(831)4659758

E-mail: [akinchits\\_elena@inbox.ru](mailto:akinchits_elena@inbox.ru) (Акинчиц Е.К.)

Универсальным свойством всехживых организмов является способность к генерации электрических потенциалов в ответ на действие тех или иных факторов. У растений выделяют потенциал действия (ПД) и переменный потенциал (ВП). По современным представлениям механизм генерации ВП связан преимущественно с обратимым угнетением активности  $H^+$ -АТФазы. Однако сложная форма реакции и наличие импульсов в её составе дают основания полагать, что в генерации ВП принимают участие и пассивные потоки ионов. Целью работы является анализ ионного механизма генерации ВП.

Объектом исследования служили 3-4 недельные проростки тыквы *Cucurbita pepo* L. Генерацию ВП вызывали ожогом семядольного листа открытым пламенем. При потенциометрическом измерении проросток располагали в термостатируемой экранированной камере, закрепляя участок стебля с удалённым эпидермисом в кювете со стандартным раствором. Изменения рСl и рН раствора в кювете, регистрировали с помощью ионселективных электродов (ЭСК-10614 и ЭЛИС-131Сl соответственно). Одновременно проводилась внеклеточная регистрация электрической активности того же участка стебля с использованием Ag/AgCl макроэлектродов.

Для регистрации изменения концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{H}^+$  с помощью комплекса лазерной сканирующей микроскопии (Carl Zeiss LSM 510 META), проростки предварительно загружали либо  $\text{Ca}^{2+}$ -чувствительным зондом fluo-4/am, либо pH-чувствительным зондом FITC-dextran.

Генерации ВП сопровождалась обратимым повышением pH во внеклеточной среде, что связано с временным угнетением активности  $\text{H}^+$ -АТФазы, причём более длительным, чем при ПД. Подтверждением участия  $\text{H}^+$ -АТФазы в генерации ВП может служить снижение амплитуды реакции при использовании 0,5 мМ  $\text{NaN}_3$ .

Применение 0,5 мМ этакриновой кислоты (блокатора анионных каналов) приводило так же к снижению амплитуды реакции. Регистрация изменений содержания  $\text{Cl}^-$  во внеклеточном растворе показала, что при генерации ВП происходит переходное уменьшение  $\text{pCl}$  на фазе деполяризации.

Об участии  $\text{Ca}^{2+}$  в процессе генерации ВП судили по значительному снижению амплитуды реакции при удалении из среды кальция с помощью 2 мМ ЭГТА. С помощью флуоресцентного зонда fluo-4/am было зарегистрировано изменение концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  при генерации ВП.

Полученные результаты указывают на то, что в генерации переменного потенциала у высших растений наряду с переходным изменением активности электрогенного насоса, вносят вклад пассивные потоки ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Cl}^-$ .

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 09-04-97085).

## **ГИПЕРАККУМУЛЯЦИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ ВЫСШИМИ СОСУДИСТЫМИ РАСТЕНИЯМИ: ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ И ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ АСПЕКТЫ**

Алексеева-Попова Н.В.

Ботанический Институт им. В.Л. Комарова РАН, ул. Проф. Попова, 2, 197376 Санкт-Петербург, тел.: (812)3464429, факс: (812)3463643

E-mail: [nep5151@gmail.com](mailto:nep5151@gmail.com)

Гипераккумуляция тяжелых металлов (ТМ) является уникальным проявлением специфической аккумулирующей способности у высших сосудистых растений. Хотя в настоящее время она привлекает внимание для практических целей фиторемедиации и разносторонне изучается, до сих пор нет единого представления о природе и механизмах аккумуляции

разных элементов. В докладе освещается явление гипераккумуляции ТМ на разных уровнях организации. Приводятся современные литературные сведения о механизмах иммобилизации ТМ на тканевом и клеточном уровнях у аккумулирующих и неаккумулирующих видов. Обобщены результаты многолетних исследований сотрудниками БИН РАН особенностей аккумуляции Ni, Zn, Cu, Mn, Fe, Cr, Co, Cd дикорастущими видами природных металлофитных флор в условиях естественного обогащения субстратов ТМ. Рассматривается уровни накопления ТМ у видов - гипераккумуляторов, изученных нами в горных тундрах Полярного Урала и Южной Чукотки (Алексеева-Попова и др., 2004; Дроздова, Алексеева-Попова, 1999; Proctor et al., 2005). Приводятся географические и биогеохимические особенности распределения видов – гипераккумуляторов ТМ на уровне мировой флоры. Явление гипераккумуляции отмечено для 34 неродственных семейств и оценивается как полифилетическое, иногда оно является монофилетическим, например, для видов рода *Thlaspi* (Macnair, 2003). Наиболее подробно в докладе освещается аккумуляция Ni на обогащенных почвах видами серпентинитовой флоры, относящимися к семейству *Brassicaceae*, уникальному по количеству гипераккумуляторов. Рассматривается филогенетическая система таксонов сем. *Brassicaceae* (Дорофеев, 2001). Значительный интерес представляют современные молекулярно-генетические исследования филогенетических связей аккумулирующих и неаккумулирующих видов растений, относящихся к одному роду. Приводится работа по эволюционной изменчивости феномена гипераккумуляции Ni у видов рода *Alyssum* на основании изучения первичных последовательностей ДНК (Mengoni et al., 2003).

Филогенетический анализ молекулярных данных является одним из подходов к теоретическому изучению структуры и функции генетических макромолекул (РНК, ДНК, белков) и их эволюционного преобразования. Наряду с макроэволюцией значительный интерес представляет также микроэволюция процесса гипераккумуляции, в основе которой лежит внутривидовая межпопуляционная изменчивость (Verbruggen et al., 2008). На основании оригинальных и литературных сведений рассматриваются различия аккумулирующей способности и устойчивости особей, относящихся к разным популяциям одного вида, представленным в контрастных геохимических и экологических условиях.

## СТЕБЛЕВЫЕ ЧЕРЕНКИ КАК МОДЕЛЬ ДЛЯ ОЦЕНКИ РЕАКЦИИ СОРТОВ ВИНОГРАДА НА СОЛЕВОЙ СТРЕСС

Алиева Земфира М.

Дагестанский государственный университет,  
ул. М. Гаджиева, 43а, 367000, г. Махачкала, тел.: (8722)675915

E-mail: [zemfrik@mail.ru](mailto:zemfrik@mail.ru)

В связи с тем, что часть территории Дагестана занята землями с высоким уровнем засоления, а виноград является ценной столовой и технической культурой, возникает необходимость поиска модели для оценки реакции растений винограда на солевой стресс. С этой целью нами были исследованы стеблевые одревесневшие черенки винограда сортов Ркацители, Мускат белый, Пино гри, Агадаи, отличающиеся по солеустойчивости. Варианты опытов: черенки постоянно культивировали в растворах  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  и  $10^{-3}$ М хлорида и сульфата натрия. Контроль – отстоянная водопроводная вода. О реакции черенков на засоление судили по состоянию развития побегов из почек, корнеобразованию, появлению солевых ожогов, накоплению сырой и сухой биомассы. Черенки разных сортов отличались по этим показателям реакции на стресс. У всех сортов в растворе  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $10^{-1}$ М черенки корней не образовывали и в последствии засыхали в течение двух недель, наблюдалась и мацерация концев, находящихся в растворах. Однако в  $\text{NaCl}$   $10^{-1}$ М при отсутствии корней наблюдалось распускание почек у 5-30% черенков всех сортов (Агадаи, Пино гри). У с. Агадаи и Мускат белый показатели распускания почек несколько превышали таковые в контроле на 4-7% (Мускат  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $10^{-2}$ М;  $\text{NaCl}$   $10^{-2}$ М и  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $10^{-3}$ М у обоих сортов). А у с. Пино и Ркацители они сходны с контролем или несколько ниже (Пино – 89 и 85% при 97% в контроле; Ркацители – 95 и 87% при 95% в контроле). Показатели корнеобразования в разных вариантах засоления по сортам более разрознены. Так, у с. Пино в варианте  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $10^{-2}$ М лишь у 43% черенков образовались корни, в  $\text{NaCl}$   $10^{-3}$ М – у 67, тогда как в контроле – у 76%. А в варианте  $\text{NaCl}$   $10^{-2}$ М эта цифра превышала контроль (81%). У с. Ркацители темпы корнеобразования в хлориде натрия превышали контрольные или сходны с ними (90-95%), а в сульфате – ниже контроля (77 и 82%). У с. Агадаи также в вариантах с хлоридным засолением большее число черенков дали корни по сравнению с сульфатным, но ниже, чем в контроле (87-90% в  $\text{NaCl}$ , 77-83% в  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , а в контроле 93%). У с. Мускат 97% черенков в варианте  $\text{NaCl}$   $10^{-2}$ М образовали корни, как и в контроле. В остальных вариантах эти цифры ниже на 4% за исключением варианта  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $10^{-2}$ М (90%). В растворе  $10^{-2}$ М сульфата натрия у с. Пино отмечена хлоротичность листовых пластинок. При зеленой окраске жилок ткани между ними обесцвечивались, как и края листьев. Судя по полученным данным, реакция стеблевых черенков винограда на солевой



стресс различна у сортов и зависит от вариантов и степени засоления. Сульфатное засоление оказывает более ингибирующее влияние на развитие корней, а в высоких концентрациях и на побегообразование по сравнению с хлоридным. Сорт Пино гри менее устойчив из изученных сортов, а сорта Ркацители и Мускат белый наиболее устойчивы к обоим типам засоления. Средние концентрации ( $10^{-2}$ М) хлорида натрия оказывают некоторое стимулирующее действие на черенки. Стеблевые черенки винограда являются удобной моделью для оценки реакции сортов винограда на солевой стресс и могут быть рекомендованы для дальнейших исследований.

## **КОМПЛЕКСНОЕ ДЕЙСТВИЕ ТОКСИКАНТОВ НА РОСТ ПРОРОСТКОВ И РИЗОГЕНЕЗ ЧЕРЕНКОВ**

Алиева З.М., Юсуфов А.Г., Ивахненко К.Ю.

Дагестанский государственный университет,  
ул. М. Гаджиева, 43а, 367000, г. Махачкала, тел.: (8722)675915

E-mail: [zalieva@mail.ru](mailto:zalieva@mail.ru)

К настоящему времени человечество ввело в биосферу миллионы новых веществ – ксенобиотиков и значительно изменило естественное распределение многих химических элементов. Аналитический контроль такого количества веществ затруднен, еще более сложной делает ситуацию то, что токсиканты, помимо прямых эффектов, могут взаимодействовать различным образом, а направленность такого совместного действия во многих случаях не изучена. В этой связи актуальным становится изучение комбинированного действия веществ на растения, занимающие особое место в экосистемах, выступающие биоиндикаторами, ремедиаторами, гипераккумуляторами и биотрансформаторами химических соединений. В связи с этим целью данной работы было изучение комплексного действия  $K_2Cr_2O_7$ ,  $CuSO_4$ ,  $ZnSO_4$ , а также пестицида дециса на растения огурца *Cucumis sativus* L. (сорт «Феникс») и редиса *Raphanus sativus* L. («РБК»). Избыточное поступление этих веществ в почву связано с применением их в сельскохозяйственном и промышленном производствах ( $CuSO_4$ , децис), при добыче нефти в качестве компонентов буровых растворов ( $K_2Cr_2O_7$ ). Последнее делает подобные исследования особенно актуальными для Дагестана.

Комплексное действие ионов тяжелых металлов и пестицида нами было изучено по классическим показателям выживаемости и роста корней у

проростков (ИСО -1769), а также по ризогенезу их черенков. Установлены пороговые и летальные дозы сульфатов меди и цинка, бихромата калия и пестицида дециса для проростков редиса и огурца при их совместном и раздельном действии. В ходе экспериментов установлен убывающий ряд токсичности солей тяжелых металлов:  $K_2Cr_2O_7$  -  $CuSO_4$  -  $ZnSO_4$ . Так, в то время как в растворах  $ZnSO_4$  (200-400 мг/л) выживаемость проростков на пятые сутки составляла 93-97%, то в  $CuSO_4$  (250 мг/л) – 70%, а  $K_2Cr_2O_7$  (300 мг/л) – лишь 57%. Характер комплексного действия использованных нами веществ достаточно сложен. При проведенной нами оценке как выживаемости и роста проростков, так и ризогенеза черенков обнаружено, что медный купорос усиливал токсическое действие дециса, ослаблял действие бихромата калия, а сульфат цинка ослаблял действие медного купороса, причем эти эффекты зависели от концентраций веществ. Так, невысокие концентрации  $ZnSO_4$  (около 5 мг/л) ослабляли токсическое действие  $CuSO_4$  на черенки, а повышенные (выше 10-20 мг/л) – усиливали его, ослабление эффектов наблюдалось при умеренных, но не летальных их дозах.

В эксперименте выявлены пороговые и летальные дозы токсикантов, а также возможность усиления и ослабления их эффектов, что может иметь практическое значение. Для оценки совместного действия ксенобиотиков информативным оказался показатель общей укореняемости черенков, что делает его перспективным в подобного рода исследованиях, в том числе при поиске возможностей ослабления эффектов токсикантов при разных их сочетаниях.

## **ГЛИЦИНБЕТАИН ПРОТИВОДЕЙСТВУЕТ ИНГИБИРУЮЩЕМУ ДЕЙствию УМЕРЕННОГО ТЕПЛОВОГО СТРЕССА НА ВОССТАНОВЛЕНИЕ ФОТОСИСТЕМЫ 2 В ПРОЦЕССЕ ФОТОИНГИБИРОВАНИЯ**

Аллахвердиев С.И.\*,\*\*, Лось Д.А.\*, Мурата Н.\*\*\*

\* Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая 35, 127276 Москва, тел./факс:(495)9779372

\*\*Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Московская обл., 142290, Россия

\*\*\*Национальный институт фундаментальной биологии, Okazaki 444-8585, Япония

E-mail: [sallakhverdiev@yandex.ru](mailto:sallakhverdiev@yandex.ru) (Аллахвердиеву С.И.)

Экспрессия бактериального гена *codA*, кодирующего холиноксидазу, приводит к накоплению глицинбетаина в клетках *Synechococcus* sp. PCC 7942 в присутствии экзогенного холина. Мы наблюдали два типа

защитного действия глицинбетаина в процессе термоиндуцированной инактивации фотосистемы 2 (ФС 2) в темноте. В трансгенных клетках происходил сдвиг области инактивации кислород-выделяющего комплекса (КВК) с 40-52°C (с температурой 50%-ной инактивации 46°C) до 46-60°C (с температурой 50%-ной инактивации 51°C). Также наблюдался и сдвиг инактивации фотохимического реакционного центра (РЦ) с 44-55°C (с температурой 50%-ной инактивации 51°C) до 52-63°C (с температурой 50%-ной инактивации, составляющей 58°C). На свету ФС 2 была более чувствительна к тепловому стрессу, особенно в комбинации со световым стрессом. Раздельное действие этих стрессовых факторов не вызывали инактивации КВК и РЦ ФС 2. Умеренный тепловой стресс не влияет непосредственно на фотоповреждение, но ингибирует восстановление ФС 2, преимущественно на уровне *de novo* синтеза белка Д1. Экспрессия *codA* гена в трансгенных клетках обеспечивала накопление глицинбетаина и, таким образом, снижала ингибирующее действие умеренного теплового стресса на восстановление ФС 2 путем ускорения синтеза белка Д1. Предложена схема, описывающая функционирование фотосинтетического аппарата цианобактерий в условиях умеренного теплового стресса: тепловой стресс ингибирует процесс трансляции, а глицинбетаин защищает ее от инактивации, вызванной нагреванием.

## **УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ ВИДОВ РОДА *Brassica* К ПОВЫШЕННЫМ КОНЦЕНТРАЦИЯМ МЕДИ В ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ**

Алобайди Х.Х.\* , Башмакова Е.Б.\*\* , Холодова В.П.\*\* , Кузнецов Вл.В.\*\*

\* Российский университет дружбы народов, ул. Миклухо-Маклая, 6, 117198 Москва, тел. (495)4345300, факс (495)433 1511

\*\* Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая 35, 127276 Москва, тел. (495)977 9254, факс (495)977 8018

Медь является эссенциальным элементом, входящим в состав ряда белковых молекул, в том числе, в качестве кофактора в ферменты электрон-транспортной цепи. Вместе с тем, Си в высоких концентрациях обладает высокой токсичностью для живых организмов. Основным источником загрязнения Си окружающей среды являются горнодобывающие, перерабатывающие производства и предприятия по реутилизации промышленных отходов. Многолетнее использование Си-содержащих препаратов для борьбы с болезнями и вредителями с/х культур служит причиной загрязнения почв сельскохозяйственного

назначения. Задачей начального этапа представленной работы явился поиск устойчивых к избытку Cu культур с целью их использования в фиторемедиации.

Молодые растения (3-4 недели) 4 видов *Brassica* (*B. napus*, *B. juncea* из России, *B. niger* и *B. alba* из Ирака) культивировали на питательной среде, содержащей повышенные концентрации меди (0.25 – контроль, 10, 25, 50, 100 и 150 мкМ  $\text{CuSO}_4$ ) в течение 7-10 дней. Избыток меди слабо влиял на рост растений *B. alba*, даже максимальная концентрация 150 мкМ  $\text{CuSO}_4$  понизила накопление биомассы всего на 10% от контроля. Ингибирующий эффект сильно проявился на растениях *B. juncea* и *B. niger*, снижение составило на 80% от контроля; растения *B. napus* заняли промежуточное положение. Растения изученных видов *Brassica* сильно различались по содержанию меди в листьях контрольных вариантов. У растений *B. juncea*, *B. napus* и *B. niger* ее уровень превосходил концентрацию в листьях *B. alba* в 2.5-3 раза. Однако при воздействии избытка меди у первых 3х видов ее максимальный уровень повысился в 5-6 раз, тогда как у *B. alba* 10-11 раз. При исследовании возможных причин различий в устойчивости к Cu между изучаемыми видами была установлена значительная разница по уровню пролина (Про). У растений *B. juncea*, *B. napus* и *B. niger* контрольного варианта концентрация Про была близкой – 0.88-0.95 мкмол/г свежей массы листьев. Избыток меди у растений этих видов вызывал сильное повышение концентрации Про, при максимальном воздействии  $\text{CuSO}_4$  150 мкМ – в 12, 15 и 19 раз, соответственно. В отличие от этих видов, у растений *B. alba* конститутивный уровень достигал 2.54 мкмол/г, но увеличение при 150 мкМ  $\text{CuSO}_4$  всего было 11 раз, хотя при этом абсолютная величина – 28.0 мкмол/г – превосходила уровень Про у других исследованных видов в 3.0, 2.8, 1.5 раз.

Обнаруженные отличия растений *B. alba* свидетельствуют о необходимости изучения механизмов устойчивости этого вида к высоким концентрациям меди и позволяют рассматривать *B. alba* как вид, потенциально перспективный для целей фиторемедиации загрязненных медью территорий.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 10-04-00799-а, 08-04-90111-Мол\_а и Программы Президиума РАН “Молекулярная и клеточная биология”.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНОТИПОВ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ МЕТАЛЛОУСТОЙЧИВЫХ ФОРМ

Алыбаева Р.А.

Казахский национальный университет им. аль-Фараби МОН РК; пр. аль-Фараби 71, 050038, Алматы, Республика Казахстан, тел.:(727)2470533, факс:(727)2742517

E-mail: [raya\\_aa@mail.ru](mailto:raya_aa@mail.ru) ( Алыбаевой Р.А.)

Наиболее острая проблема, решение которой имеет практическое значение, является загрязнение тяжелыми металлами агроценозов вблизи крупных промышленных центров. Отдельные сорта различных видов продовольственных культур проявляют существенные различия по устойчивости к действию почвенных загрязнителей. Эти их свойства можно использовать в экологически чистом производстве, подбирая наиболее металлоустойчивые культуры получать экологически безопасную продукцию. Металлоустойчивые формы также могут служить донорами при создании толерантных к загрязнителям сортов растений. Восточно-Казахстанский регион характеризуется наличием большого числа техногенных загрязнителей, среди которых лидирующая роль принадлежит тяжелым металлам. В связи с этим были исследованы различные генотипы озимой пшеницы, важной сельскохозяйственной культуры, для выявления металлоустойчивых видов с целью их дальнейшего использования в экологически чистом производстве и селекционном процессе.

Эксперименты были выполнены на 7-суточных проростках различных генотипов пшеницы, выращенных на питательной смеси, содержащей 0,1 мМ  $\text{CaSO}_4$ , ионы Pb в концентрации 200 и 400 мг/л (в виде соли  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ) или ионы Zn в концентрации 200 и 400 мг/л (в виде соли  $\text{ZnSO}_4$ ). Свинец и цинк определяли методом атомной абсорбции на приборе AAnalyst 300 фирмы "Perkin Elmer". Определение проницаемости мембран для электролитов проводили кондуктометрически по методу Декстера.

Исследование содержания свинца и цинка в надземных органах и корнях проростков различных генотипов озимой пшеницы показало, что наименьшее их накопление в надземных органах озимой пшеницы, при содержании в среде 400 мг/л, наблюдается: свинца – в проростках сорта Мироновская 808 и вида *Triticum triuncialis* L., цинка – в проростках сорта Красноводопадская 25 и видов *Triticum timofeevi* Zhuk., *Triticum triuncialis* L. Наименьшее количество свинца и цинка накапливают корни растений: сорта Купава при его содержании в среде 200 мг/л и сорта Мироновская 808 и вида *Triticum timofeevi* Zhuk. при содержании его в среде 400 мг/л. Из культурных генотипов наиболее устойчивым к действию свинца и цинка

оказался сорт озимой пшеницы Мироновская 808. Достаточно высокую устойчивость показал также сорт озимой пшеницы Красноводопадская 25. Наиболее чувствительным генотипом оказалась линия озимой пшеницы МК-3745. Проницаемость мембран для электролитов у более устойчивого сорта Мироновская-808 изменялась в меньшей степени по сравнению с более чувствительным МК-3745, как при действии свинца, так и при действии цинка. Данный факт свидетельствует о том, что устойчивость растений в целом может быть обусловлена устойчивостью их клеточных мембран к действию стрессора.

## **РОЛЬ ЛИСТЬЕВ И КОРНЕЙ В ФОРМИРОВАНИИ УСТОЙЧИВОСТИ К ГИПОТЕРМИИ РАСТЕНИЙ ТАБАКА**

Антипина О.В.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, ул. Ботаническая, 35, 127276, Москва, тел.:(499)2318326, факс:(495)9778018,

E-mail: [trunova@ippras.ru](mailto:trunova@ippras.ru)

Адаптация растений к низким температурам является сложным, интегральным процессом, протекающим на всех уровнях структурной организации организма и затрагивающим практически все функции растения. На сегодняшний день возможности закаливания теплолюбивых растений к низким температурам изучены недостаточно полно. Поэтому детальное изучение физиологических процессов на органном уровне (у листьев и корней) представляет большой интерес для оценки способности теплолюбивых растений к низкотемпературной адаптации. Объектом исследования служили теплолюбивые растения табака (*Nicotiana tabacum* L.) сорта Samsun, которые культивировали на минеральном субстрате при 22°C, 16 ч фотопериоде и освещенности 5 клк в камере фитотрона ИФР РАН. Установлено, что во время закаливающей холодной экспозиции (8°C, 6 суток) в листьях и корнях табака происходили противоположные физиологические процессы, обеспечивающие повышение холодоустойчивости листьев и неспособность корневой системы к низкотемпературному закаливанию.

В листьях растений в процессе закаливания было отмечено увеличение содержания липидов, повышением доли ПНЖК, возрастание ИН, что обеспечивало сохранение текучести мембран в период охлаждения и стабилизировало работу электронтранспортирных цепей, в свою

очередь, приводя к снижению накопления активных форм кислорода и, следовательно, к уменьшению интенсивности перекисного окисления липидов. Поддержание жидкостных свойств мембран закаленных листьев растений позволяло сохранить клеточный гомеостаз и, тем самым, обеспечить активность антиоксидантных ферментов в условиях низких температур, что так же предотвращало избыточное накопление АФК. В то же время снижение количества ПНЖК в корневой системе растений табака сопровождалось уменьшением активности всех исследованных антиоксидантных ферментов, и соответственно увеличением скорости генерации АФК и повышением интенсивности ПОЛ. Таким образом, можно констатировать, что холодостойкость теплолюбивых растений табака определяется способностью к низкотемпературному закаливанию их органов. Показана возможность значительного повышения устойчивости надземной части растений табака, вплоть до устойчивости к отрицательным температурам, и неспособность корневой системы табака к низкотемпературному закаливанию, что является лимитирующим фактором, определяющим в целом низкий потенциал устойчивости теплолюбивых растений к гипотермии.

Работа поддержана РФФИ (проект № 09-04-00355-а).

## **УЧАСТИЕ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ И ФЕРМЕНТОВ ЕЕ МЕТАБОЛИЗМА В ФИЗИОЛОГИЧНОЙ АДАПТАЦИИ ГОРОХА И КУКУРУЗЫ К СОВМЕСТНОМУ ДЕЙСТВИЮ СОЕДИНЕНИЙ НИКЕЛЯ И КАДМИЯ**

Артюшенко Т.А., Гришко В.Н.

Криворожский ботанический сад НАН Украины; ул. Маршака, 50, 50089 Кривой Рог, Украина, тел. (+380564)384923, факс (+380564)384803

E-mail: [art.tatyana1982@yandex.ru](mailto:art.tatyana1982@yandex.ru) (Артюшенко Т.А.)

Изучены особенности протекания процессов перекисного окисления липидов и функционирования аскорбатзависимой антиоксидантной системы у растений при совместном действии серноокислых соединений кадмия и никеля, а также влияния регуляторов роста на отмеченные процессы. Показано, что поглощение ионов кадмия и никеля корнями имеет двухфазный характер. Наиболее интенсивная адсорбция металлов происходит в первые 7 часов стрессового влияния и существенно снижается в дальнейшем. Транслокация никеля и кадмия к листкам гороха отмечается уже в первый час стрессового действия, тогда

как у кукурузы – лишь после седьмого. Установлено, что совместное действие кадмия и никеля индуцирует окислительный стресс, который проявляется в увеличении в 1,2-2,8 раз содержания как диеновых и триеновых конъюгатов, так и ТБК-активных соединений. Количество последних, по нашему мнению, может использоваться в качестве маркеров стрессового влияния. Участие аскорбиновой кислоты в стабилизации про-/антиоксидантного равновесия у растений при действии кадмия и никеля проявляется в повышении ее содержания в листьях и корнях в течение первых 7 часов, а после 12 часов – снижении вследствие интенсивного использования для торможения процессов свободнорадикального окисления липидов, на что указывает рост уровня дегидроаскорбиновой и 2,3-дикетогулоновой кислот. Впервые установлены особенности функционирования аскорбатпероксидазы и дегидроаскорбатредуктазы при совместном действии ионов никеля и кадмия, которые обусловлены аккумуляцией последних и видоспецифичностью содержания форм аскорбата. Большая адаптационная способность кукурузы, по сравнению с горохом, реализуется за счет более эффективной работы ферментов окисления/восстановления аскорбиновой кислоты. Впервые показано, что предварительная обработка регулятором роста зеастимулином снижает транслокацию ионов кадмия и никеля к листьям кукурузы, тогда как у гороха использование агростимулина не отражалось на темпах их накопления в листьях. Применение регуляторов роста приводило к снижению количества продуктов перекисного окисления липидов (в 1,2-2,1 раза) при интенсификации функционирования аскорбатзависимой антиоксидантной системы (повышение содержания аскорбиновой кислоты и активности аскорбатпероксидазы в листьях).

## **ИЗМЕНЕНИЕ СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ХЛОРОПЛАСТОВ И УСТОЙЧИВОСТИ К ГИПОТЕРМИИ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ ПОД ВЛИЯНИЕМ ТРАНСФОРМАЦИИ ГЕНОМ *DESA Δ12*-АЦИЛ-ЛИПИДНОЙ ДЕСАТУРАЗЫ ЦИАНОБАКТЕРИИ *SYNECHOCYSTIS SP.***

Астахова Н.В., Демин И.Н., Нарайкина Н.В., Трунова Т.И.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая, 35, 127276 Москва, тел. (499)2318334, факс: (495)9778018

E-mail: [trunova@ippras.ru](mailto:trunova@ippras.ru)

Проблема устойчивости растений к низким температурам и изучение способов ее повышения имеет большое фундаментальное и прикладное



значение. По мнению ряда авторов, повреждения растений при гипотермии начинаются с нарушений в структуре мембран и мембранных органелл в целом. Особый интерес представляют хлоропласты, так как от координации работы компонентов их электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) зависит интенсивность образования активных форм кислорода (АФК) при гипотермии. Активность мембран в значительной степени определяется их текучестью, и соответственно степенью ненасыщенности жирных кислот, входящих в состав мембранных липидов.

Цель настоящей работы состояла в изучении влияния гена *desA*  $\Delta$ 12-ацил-липидной десатуразы цианобактерии *Synechocystis sp.*, повышающей количество ненасыщенных жирных кислот (прежде всего, уровень линолевой (18:2) кислоты) в мембранных липидах, на ультраструктурную организацию хлоропластов и устойчивость растений картофеля (*Solanum tuberosum* L.) к действию гипотермии. Основное внимание было сосредоточено на происходящих в структуре хлоропластов модификациях и выявлении их связи с изменением устойчивости к окислительному и низкотемпературному стрессам растений картофеля сорта Десница, трансформированных выше указанным геном (*desA-licBM3*-растения). Контролем служил нетрансформированный картофель того же сорта. Растения выращивали *in vitro* на агаризованной МС-среде, содержащей 2% сахарозы и витамины. Морфометрический анализ показал, что у *desA-licBM3*-растений число гран в хлоропласте увеличилось почти на 50%, а количество тилакоидов в грани возросло более, чем на четверть. Таким образом, общее количество тилакоидов в хлоропласте *desA-licBM3*-растений было почти в 2 раза выше, чем в контроле. Под влиянием трансформации число пластоглобул и крахмальных зерен в одном хлоропласте возросло почти на 20%. Существенное увеличение количества гран и общего числа тилакоидов, а также пластоглобул в хлоропластах *desA-licBM3*-растений свидетельствует о более интенсивном, по сравнению с контролем, липидном метаболизме, что способствует консервации части липидного материала в виде пластоглобул. Экспрессия гетерологического гена *desA*  $\Delta$ 12-ацил-липидной десатуразы положительно сказывалась не только на стабилизации структуры, но и функций мембран хлоропластов, тем самым предотвращая "сброс" электронов с ЭТЦ на кислород и последующее образование АФК при гипотермии, что было подтверждено снижением скорости генерации супероксид-аниона и повышением устойчивости к холоду трансформированных растений.

## ИОННО-ОБМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ПОГЛОЩЕНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ РАСТЕНИЯМИ ЯЧМЕНЯ (*Hordeum vulgare* L.)

Атабаева С.Д.\*, Бейсенова А.Ж. \*\*, Сарсенбаев Б.А. \*\*, Камелбек Н.\*

\* КазНУ им. аль-Фараби МОН РК; ул. аль-Фараби, 71, 050000 Алматы, Казахстан, тел. (727) 2773329

\*\* Институт биологии и биотехнологии растений НЦБ МОН РК; 050040 Алматы, Казахстан, тел. (727) 3947550

E-mail: [sauleat@yandex.ru](mailto:sauleat@yandex.ru) (Атабаевой С.Д.), [aizhan.beisenova@mail.ru](mailto:aizhan.beisenova@mail.ru), [sbat08@rambler.ru](mailto:sbat08@rambler.ru)

В фиторемедиации загрязненных почв для свинца (Pb) главным лимитирующим фактором является ограниченная растворимость в почве [Прасад, 2003]. Одним из путей повышения фитоэкстракции Pb является применение хелатирующих агентов типа ЭДТА [Saifullah et al., 2009]. Начальная реакция на границе корень-среда является важной в поглощении токсических металлов из загрязненной почвы. Было изучено поступление Pb в органы целого растения, отсеченные корни и отсеченные надземные органы в среде с Pb (1000 мг/л) и ЭДТА (1 г/л). Растения ячменя выращивали в водопроводной воде в пластиковых сосудах в течение 7 дней. На 8-й день часть растений помещали в растворы с содержанием Pb (в виде соли  $Pb(NO_3)_2$ ) и ЭДТА в несколько вариантов: целые растения без Pb (контроль), целые растения с Pb и (Pb+ЭДТА), отсеченные надземные органы с Pb и (Pb+ЭДТА), отсеченные корни с Pb и (Pb+ЭДТА). На 14-день определяли содержание Pb в органах растений. Известно, что в среде с  $Pb(NO_3)_2$  ионы Pb находятся в катионной форме ( $Pb^{2+}$ ), а в среде (Pb+ЭДТА) – в анионной форме  $[Pb-ЭДТА]^{2-}$  [Crist et al., 2004]. В варианте (Pb+ЭДТА) с отсеченными надземными органами (без корней) Pb поглощался в наибольшей степени. В вариантах с отсеченными надземными органами наибольшее содержание Pb обнаружено в варианте (Pb+ЭДТА): в 5 раз больше, чем в надземных органах в варианте «целое растение+Pb» и в 1,6 раз превышало это значение в варианте «отсеченные надземные органы+Pb». Это подтверждает значительную роль транспирации в поглощении Pb в анионной форме целым растением, так как анионная форма слабее поглощалась отсеченными корнями без надземных органов по сравнению с корнями целого растения с надземными органами: в варианте (Pb+ЭДТА) содержание Pb в корнях было меньше, чем в варианте с Pb без ЭДТА на 40% и на 58% меньше, чем в корнях целого растения варианта (Pb+ЭДТА). Итак, поглощение металлов

в присутствии ЭДТА надземными органами и корнями происходит благодаря транспирации. Поглощение металл-ЭДТА комплексов происходит, в основном, неселективным апопластным путем и в целых растениях движущей силой этого транспорта является транспирация. Предполагается, что поглощение металлов в виде катионов происходит с помощью ионно-обменных процессов с помощью транспортных АТФаз [Crist et al., 2004].

## **ОСОБЕННОСТИ КОНЦЕНТРАЦИОННОЙ КРИВОЙ РОСТРЕГУЛИРУЮЩИХ И ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИХ СВОЙСТВ ЦИТОКИНИНОВ В НОРМЕ И ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ СОСТОЯНИЯ СТРЕССА**

Бабоша А.В., Комарова Г.И., Рябченко А.С., Аветисян Т.В.

Учреждение Российской академии наук Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН; ул. Ботаническая 4, 127276 Москва, (495)9778000

E-mail: [phimmunitet@yandex.ru](mailto:phimmunitet@yandex.ru) (Бабоша А.В.)

Изучение концентрационных зависимостей является неотъемлемой частью оптимизации технологии применения физиологически-активных веществ. При этом наличие сложной концентрационной кривой, изменяющейся в зависимости от физиологического состояния растения, усложняет также и возможности практического использования этих веществ. Вариабельность формы концентрационной зависимости исследовали на примере кривой активности экзогенных цитокининов, часто имеющей многофазный и немонотонный характер. Показано, что зависимость доза-эффект действия зеатина на восприимчивость растения-хозяина в патосистеме растения пшеницы–возбудитель мучнистой росы может иметь один или несколько диапазонов положительной и отрицательной модуляции. При ингибировании зеатином роста корня проростков многофазность проявлялась как флуктуации на фоне характерного ингибирующего тренда. В обоих случаях форма концентрационной кривой сильно варьировала в независимых экспериментах. Как известно, условия существования растений нестабильны. На цитокининовый обмен могут оказывать влияние окислительный взрыв, являющийся характерной особенностью биотических и абиотических стрессов, а также эндогенные вещества, синтезированные в ответ на контакт с элиситорами фитопатогенов. Подобную ситуацию моделировали одновременным использованием

зеатина и перекиси водорода или салициловой кислоты. Серия концентрационных кривых действия зеатина на рост корня и гипокотыля рапса при одновременном внесении различных концентраций перекиси водорода, включала кривую с ингибирующей активностью (без перекиси водорода), кривую с преимущественной стимуляцией роста и достоверным максимумом (1 мкМ перекиси водорода), кривые промежуточной формы (0,3 и 3,3–10 мкМ) или похожие на концентрационные зависимости зеатина в отсутствие перекиси водорода. Полученные данные свидетельствуют об изменении активности цитокининов под действием перекиси водорода. При определенных концентрациях этого вещества ростовая реакция на цитокинины меняет знак на противоположный. Форма концентрационной кривой рострегулирующей и иммуномодулирующей активности зеатина изменялась также при добавлении в качестве иммуномодулятора иной природы салициловой кислоты. Таким образом, стрессовые условия, вероятно, могут быть одним из источников варибельности активности цитокининов и формы их концентрационной кривой. Наоборот, опосредованное стрессом изменение цитокининового метаболизма, вероятно, может оказывать влияние на величину и направление активности некоторых экзогенных иммуномодуляторов. Очевидно, что технология использования иммуномодуляторов и регуляторов роста растений должна учитывать возможность изменения характера их биологической активности в стрессовых условиях и быть направлена на стабилизацию нужного направления активности данных веществ.

## **ИЗМЕНЕНИЕ ВИДОВОГО СОСТАВА КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ ЧИНЫ ВЕСЕННЕЙ *LATHYRUS VERNUS* (L.) BERNH И ЧИНЫ ЛЕСНОЙ *LATHYRUS SYLVESTRIS* L. В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЧВЕННО-КЛИМАТИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ**

Баймиев Ан.Х., Птицын К.Г., Благова Д.К., Баймиев Ал.Х.

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН;  
Проспект Октября 71, 450054, Уфа, тел: (347)2356100, факс: (347)2356088

E-mail: [baymiev@mail.ru](mailto:baymiev@mail.ru) (Баймиеву А.Х.)

Продуктивность бобовых во многом зависит от эффективности взаимодействия их с клубеньковыми бактериями, которые снабжают бобовое растение фиксируемым из воздуха азотом. Эта зависимость

настолько велика, что некоторые виды бобовых растений практически неспособны расти в почвах, где нет их микросимбионтов. Это обстоятельство в свою очередь влияет на ареал произрастания дикорастущих бобовых растений, который зависит не только от самих растений, но и от наличия специфических клубеньковых бактерий в данных почвенно-климатических условиях. Особенно это касается дикорастущих бобовых умеренного климата, для которых характерна высокая специфичность при образовании симбиоза. Род чина *Lathyrus* L. относятся к трибе *Vicieae* и входит совместно с родами *Pisum*, *Vicia* и *Lens* в одну группу перекрестной инокуляции, которая вступает, как считается, в симбиоз со штаммами клубеньковых бактерий вида *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*. При исследовании клубеньковых бактерий, вступающих в симбиоз с чинной весенней *L. vernus* (L.) Bernh и чинной лесной *L. sylvestris* L., произрастающих в различных районах Республики Башкортостан нами было обнаружено, что данные растения наряду с *R. leguminosarum* bv. *viciae* способны также вступать в симбиоз и с другим видом клубеньковых бактерий *R. tropici*, являющиеся обычно симбионтами фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris* L.). Интересным оказался тот факт, что *R. tropici* были обнаружены в клубеньках растений, произрастающих только на кислых почвах (рН 4,3-5,0), где на их долю приходилось более 97% исследованных клубеньковых бактерий. Этот вид бактерий, как показывают многие исследователи, характеризуются высокой кислотоустойчивостью и активно образуют клубеньки в условиях кислых почв. При дальнейшем исследовании было также обнаружено, что данные штаммы *R. tropici* в составе своего генома содержат симбиотические гены, имеющие высокую гомологию с аналогичными генами *R. leguminosarum* bv. *viciae*, что несомненно наводит на мысль о возможности образования симбиоза чины весенней и чины лесной с *R. tropici* благодаря широко распространенному среди клубеньковых бактерий горизонтальному переносу симбиотических генов от *R. leguminosarum* bv. *viciae* к *R. tropici*. Штаммы, способные вступать в симбиоз с чинной весенней и чинной лесной в условиях кислых почв, где обычные симбионты этих растений *R. leguminosarum* bv. *viciae* теряют свою вирулентность, возникли, скорее всего, вследствие генетической рекомбинации, что и дало возможность данным растениям успешно произрастать на кислых почвах.

## **УЧАСТИЕ ЦИКЛИЧЕСКОГО ГУАНОЗИНМОНОФОСФАТА В ТРАНСДУКЦИИ ТЕМПЕРАТУРНОГО СТРЕССОВОГО СИГНАЛА В ПРОРОСТКАХ *Arabidopsis thaliana***

Бакакина Ю.С., Колеснева Е.В., Дубовская Л.В., Волотовский И.Д.

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси; ул. Академическая, 27, 220072 Минск, тел.: (37517)2841661, факс: (37517)2842359

E-mail: [bakakinay@mail.ru](mailto:bakakinay@mail.ru) (Бакакиной Ю.С.)

В настоящее время имеются неопровержимые доказательства участия в клетках растений циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ) в качестве биологически активной сигнальной молекулы. Мы предположили возможное участие этой молекулы в качестве вторичного медиатора в реализации температурного стрессового сигнала в растениях, приводящего к их адаптации к экстремальным температурам. Цель данной работы заключалась в оценке воздействия температурного стрессового фактора на эндогенное содержание цГМФ в растениях и установлении механизма трансдукции цГМФ-опосредованного сигнала. Обнаружено, что низко- и высокотемпературный стресс в ткани проростков арабидопсиса вызывал значительное быстрое увеличение эндогенного содержания цГМФ уже через 15 сек после воздействия с максимумом через 30 сек. С помощью ингибиторного анализа, а также прямого измерения удельной активности ферментов метаболизма цГМФ, установлено, что в ответ на действие температурного стресса в клетках растений происходит активация фермента синтеза цГМФ – гуанилатциклазы, что и приводит к увеличению содержания цГМФ в клетке. Также нами выявлено, что действие указанного стрессового фактора в проростках арабидопсиса сопровождается быстрым повышением концентрации монооксида азота (NO), которое в случае низкотемпературного воздействия катализировалось нитратредуктазой, а при действии высоких температур – NO-синтазой и нитратредуктазой. Кинетический и ингибиторный анализ показал, что цГМФ-ответ на действие стрессора наступал несколько позже, чем NO-реакция, следовательно, образование цГМФ при температурном стрессовом воздействии индуцируется NO. С помощью трансгенных растений арабидопсиса, экспрессирующих Ca<sup>2+</sup>-чувствительный фотобелок апоэкворин в цитозоле клеток, было обнаружено, что температурное стрессовое воздействие приводило к быстрому и значительному увеличению концентрации свободных ионов Ca<sup>2+</sup> в цитозоле клеток ( $[Ca^{2+}]_{цит}$ ), причем увеличение

внутриклеточного содержания NO и цГМФ предшествовало росту  $[Ca^{2+}]_{цит}$ . Показано, что предварительная инкубация экворин-содержащих проростков арабидопсиса с ингибитором гуанилатциклазы, а также с модуляторами метаболизма NO вызывала изменение величины  $Ca^{2+}$ -ответа при действии низких и высоких температур. Следовательно, действие температурного стресса на  $[Ca^{2+}]_{цит}$  осуществляется по цГМФ-зависимому сигнальному пути при участии NO. Таким образом, нами установлен механизм и характер взаимодействия между цГМФ и NO- и  $Ca^{2+}$ -зависимыми сигнальными системами при действии экстремальных температур и показано, что вторичные медиаторы в цепи трансдукции данного стрессового воздействия находятся в следующей сигнальной последовательности: NO → цГМФ →  $Ca^{2+}$ .

## **ТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ Ni НА РОСТ И ТРАНСПИРАЦИЮ ГИПЕРАККУМУЛЯТОРА И ИСКЛЮЧАТЕЛЯ ИЗ РОДА *Alyssum* L.**

Бакланов И.А.

Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева РАН;  
127276, Москва, ул. Ботаническая, 35, тел.: (495) 2318324, факс: (495) 9778018

E-mail: baklanov\_ia@list.ru

Известно, что разные виды растений отличаются по устойчивости к тяжелым металлам и способности к их накоплению. Небольшую группу составляют растения-гипераккумуляторы, накапливающие, например, в случае Ni, более 1000 мкг/г сухой массы. Физиологические механизмы гипераккумуляции Ni в настоящее время мало изучены. Для их понимания и объяснения необходим сравнительный анализ растений-гипераккумуляторов и исключателей из одного рода. В качестве объектов исследований нами были выбраны растения из рода *Alyssum* L.: гипераккумулятор *Alyssum lesbiacum* и исключатель *Alyssum saxatile*. Целью работы являлся сравнительный анализ накопления Ni в растениях и токсического действия на рост и транспирацию. Растения выращивали в факторостатной камере на водной культуре два месяца: первый месяц – на растворе ¼ Хогланда; второй месяц - на том же растворе с добавлением 30 мкМ нитрата Ni. Контролем служили растения, выращенные на питательном растворе без добавления нитрата Ni. О токсическом действии Ni судили по внешнему виду опытных растений (развитию хлорозов и некрозов на их листьях и стеблях) и изменению

морфометрических показателей (длины побега и корневой системы, сухой и сырой массы листьев, стеблей и корней). Интенсивность транспирации определяли весовым методом, степень открытости устьиц листьев определяли методом инфильтрации по Молишу. Количественный анализ накопления Ni в различных частях растений проводили на атомно-адсорбционном пламенном спектрофотометре. Было установлено, что опытные растения исключателя были покрыты хлорозами и некрозами, у них сокращалась длина побега, сухая и сырая масса надземных органов, чего не наблюдалось у гипераккумулятора. Изменения длины корневой системы при действии Ni у опытных растений не происходило. При анализе содержания Ni в различных органах растений было установлено, что у гипераккумулятора металл накапливался преимущественно в побеге, в корнях его было меньше. У исключателя Ni накапливался в корнях и присутствовал в надземных органах в значительно меньших количествах. Ni не оказывал действия на интенсивность транспирации гипераккумулятора *A. lesbiacum*. У исключателя *A. saxatile* при расчете на одно растение интенсивность транспирации снижалась, а при расчете на единицу площади транспирирующей поверхности – увеличивалась. Последнее можно объяснить увеличением числа устьиц на единицу площади поверхности молодых листьев, которые оставались открытыми даже при высокой концентрации Ni в среде выращивания, и за счет которых, возможно, в основном происходило испарение воды растениями.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Гранта РФФИ 08-04-00031.

## **РОЛЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА В АДАПТАЦИИ *Sium latifolium* L. К УМЕРЕННОМУ ВОДНОМУ ДЕФИЦИТУ**

Бараненко В.В.

Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины, ул. Терещенковская, 2, 01601 Киев, Украина, тел/факс: (044) 272 32 36

E-mail: [cellbiol@ukr.net](mailto:cellbiol@ukr.net)

Произрастая в природных условиях, растения подвергаются воздействию различных неблагоприятных факторов, среди которых – недостаток воды в почве. В ответ на стрессовые воздействия, растения отвечают целым комплексом перестроек, как на уровне



клеток, так и всего организма, цель которых – обеспечить не только рост и развитие, но также репродукцию и распространение растений. Одними из первых реакций–ответов растений на неблагоприятные воздействия факторов окружающей среды есть увеличение продукции активных форм кислорода (АФК) и интенсификация перекисного окисления липидов (ПОЛ). Целью работы стало изучение уровней АФК и ПОЛ, а также антиоксидантной защиты в листьях двух экотипов *Sium latifolium* L., произрастающих в контрастных условиях водообеспечения. Растения воздушно-водного экотипа произрастали в условиях достаточного водоснабжения в прибрежной зоне р. Псел (пгт. Великая Багачка, Полтавская обл., Украина), тогда как суходольного – в условиях умеренного дефицита почвы (на расстоянии 100 м от берега реки). Исследования проводились на стадии бутонизации, цветения и плодоношения растений. Интенсивность ПОЛ изучали по цветной реакции с тиобарбитуровой кислотой, уровни АФК – путем регистрации интенсивности люминол-зависимой хемилюминесценции. Антиоксидантная защита оценена по состоянию общей антиоксидантной активности (АОА), которая отражает состояние низкомолекулярных антиоксидантов и активности супероксиддисмутазы (СОД). Отмечено более высокие уровни АФК и ПОЛ в листьях суходольных растений на всех этапах развития по сравнению с воздушно-водными, что можно объяснить более стрессорными условиями произрастания. Также показатели антиоксидантной защиты были выше у суходольных растений, что, очевидно, является компенсаторной реакцией в ответ на увеличение интенсивности окислительного метаболизма. На стадии плодоношения имело место резкое увеличение интенсивности свободнорадикальных процессов у растений обоих экотипов, что объясняется развитием процессов старения. При этом более интенсивно – у представителей суходольного экотипа. Антиоксидантная активность также увеличилась, но не столь значительно, как уровни АФК и ПОЛ, что характерно для процессов старения. Более интенсивное развитие окислительных процессов у суходольных растений наряду со снижением антиоксидантной защиты, очевидно, свидетельствует о том, что суходольные растения опережают в своем развитии, в том числе и старении, воздушно-водные. Таким образом, суходольные растения, имея более высокие уровни окислительного метаболизма по сравнению с воздушно-водными, быстрее проходят все этапы развития, то есть характеризуются ускоренным онтогенезом и при этом дают полноценное потомство.

## **ЭФФЕКТЫ NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> И МАННИТОЛА НА УТИЛИЗАЦИЮ ЗАПАСНЫХ РЕЗЕРВОВ И ПРЕОБРАЗОВАНИЕ СОДЕРЖАЩИХ ИХ КОМПАРТМЕНТОВ В СЕМЯДОЛЯХ ПРОРОСТКОВ *Kochia scoparia* L.**

Баранова Е. Н.<sup>1</sup>, Гулевич А. А.<sup>1,2</sup>, Козлов Н.Н.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии Россельхозакадемии, Тимирязевская 42, Москва 12755, тел. (495)9771636

<sup>2</sup> Всероссийский научно-исследовательский институт кормов им. В.Р. Вильямса Россельхозакадемии, Лобня, Луговая, Московская область 141055, тел. (495) 577-73-37

E-mail: [greenpro2007@rambler.ru](mailto:greenpro2007@rambler.ru) (Барановой Е.Н.)

Методом трансмиссионной электронной микроскопии изучали влияние NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и маннита на процессы утилизации запасного белка в клетках мезофилла семядолей и корневой меристемы при прорастании семян *Kochia scoparia* в растворах, выровненных по осмотическому давлению.

Показано изменение количества крахмальных зерен и замедление развития хлоропластов, в зависимости от осмотического эффекта солевого воздействия. Низкие концентрации Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> не оказывали влияния на развитие фотосинтетического аппарата и утилизацию крахмальных включений, маннитол вызывал сохранение значительных запасов крахмала, не препятствуя развитию хлоропласта, NaCl не мешал формированию внутренней инфраструктуры фотосинтезирующей пластиды. При повышении изоосмотической концентрации до 607,8 кПа NaCl также не влиял на преобразование амилопластов в пластиды и утилизацию крахмала, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> частично ингибировал и развитие хлоропластов, и утилизацию крахмала, а маннитол вызывал замедление преобразования амилопластов с ингибированием утилизации крахмальных зерен.

Выявлены изменения в преобразовании запасующих вакуолей в центральную вакуоль, а также изменения в количестве и форме остатков белковых тел внутри вакуолей в зависимости от осмотического эффекта солевого воздействия. При низких концентрациях, соответствующих давлению в 202,6 кПа, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> не влиял на преобразование запасующих вакуолей в центральную вакуоль и на утилизацию белка; с увеличением концентрации, и Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, и маннит вызывали сохранение значительных запасов белка, причем маннит не нарушал процессов преобразования вакуоли. NaCl не оказывал столь сильного эффекта на конверсию запасующих вакуолей в центральную вакуоль и утилизацию белка в клетках семядолей.

Полученные результаты показывают различную чувствительность к стрессовым факторам засоления важнейших процессов метаболизма на примере утилизации крахмальных зерен и формирования фотосинтетических субкомпартов хлоропластов в мезофилле семян, мобилизации запасного белка и преобразования вакуолярного компартмента и мобилизации липидов из олеосом при прорастании семян.

Работа финансировалась Программой РАСХН 04.03.03.01.

## **ПОГЛОЩЕНИЕ КАДМИЯ И ЕГО РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПО ОРГАНАМ ЯЧМЕНЯ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВОЗРАСТА РАСТЕНИЙ**

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

Учреждение Российской академии наук Институт биологии Карельского научного центра РАН; Пушкинская 11, 185910 Петрозаводск, тел.:(814)762706, факс:(814)769810

E-mail: [batova@krc.karelia.ru](mailto:batova@krc.karelia.ru) (Батовой Ю.В.)

В условиях лабораторного опыта изучали поглощение кадмия и его распределение по органам растений ярового ячменя (с. Зазерский 85) в зависимости от концентрации металла в корнеобитаемой зоне и возраста растений. Для проведения эксперимента растения выращивали в песке до следующих фаз развития: начало 2-го и начало 4-го листа, затем проростки переносили на питательный раствор Кнопа половинной концентрации с добавлением кадмия (50 или 100 мкМ) в форме сульфата. На 4-е сутки после этого определяли содержание металла в корнях, стеблях (укороченный стебель и влагалища листьев) и листовых пластинках методом инверсионной вольтамперометрии на полярографе АВС-1.1 (Вольта, Россия).

Проведенные эксперименты показали что, с увеличением концентрации кадмия в растворе его содержание в корнях растений существенно возрастает. Установлено также, что независимо от концентрации металла в растворе его содержание в корнях более взрослых растений значительно выше, чем у более молодых. Так, после экспозиции на растворе кадмия с концентрацией 50 мкМ содержание металла в корнях растений, находящихся в фазе начало 2-го листа, составило 11.2 мкг/г сырой массы, а у растений в фазе начало 4-го листа – 17.6 мкг/г сырой массы, а после экспозиции на растворе с концентрацией металла 100 мкМ – 16.2 и 42.8 мкг/г сырой массы, соответственно.

В отличие от корней, среднее содержание металла в надземных органах растений практически не зависело от его концентрации в зоне корней и возраста растений и варьировало от 3.2 до 4.1 мкг/г (в зависимости от варианта опыта).

Анализ распределения кадмия по органам растений показал, что максимальное количество металла накапливают корни (77.7–91.7% от общего содержания в растении), значительно меньше аккумулируют стебли (6.9–18.3%) и листовые пластинки (1.4–7.3%). Выявлено, что возраст растений оказывает заметное влияние на распределение металла. В частности, при экспозиции на растворе с концентрацией кадмия 100 мкМ с увеличением возраста проростков доля металла, аккумулированного в корнях, повышалась с 84.1 до 91.7%, тогда как в стеблях и листовых пластинках, наоборот, снижалась с 8.9 до 6.9% и с 7.0 до 1.4%, соответственно.

Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что с увеличением возраста растений ячменя возрастает интенсивность поглощения кадмия из раствора и одновременно усиливается барьерная функция корней. Отмеченные возрастные различия проявляются тем сильнее, чем выше концентрация металла в корнеобитаемой зоне.

## **СПЕЦИФИКА ДЕЙСТВИЯ ОБРАБОТОК АБК И 6-БАП НА ГОРМОНАЛЬНУЮ СИСТЕМУ, ВОДНЫЙ ОБМЕН И ТЕМПЫ РОСТА РАСТЕНИЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УСЛОВИЙ ВЛАГОБЕСПЕЧЕННОСТИ**

Бахтенко Е.Ю.

ГОУ ВПО Вологодский государственный педагогический университет,  
ул.С. Орлова, 6, 160035, Вологда, тел/факс. (8172)769196

E-mail: [bakhtenko@yandex.ru](mailto:bakhtenko@yandex.ru)

Исследовалось действие АБК и 6-БАП при различной влажности почвы (70, 40, 120% ПВ) на динамику фитогормонов, показатели водного обмена, темпы роста, продуктивность. Объектами исследования являлись *Avena sativa* L. (с. Боррус) и *Triticum aestivum* L. (с. Русо). Растения выращивали методом почвенных культур в условиях вегетационного эксперимента. Опыскивание раствором АБК и 6-БАП в концентрации  $10^{-5}$  М проводили на 2-е сутки затопления или установления 30% ПВ. Контрольные растения обрабатывали водой. Определение содержания свободных форм гормонов (АБК, ИУК, зеатин и зеатин-рибозид) проводили иммуноферментным методом.

Установлено, что при 60-80% ПВ внесение АБК и 6-БАП оказывает различное действие: АБК снижает содержание ИУК, возрастание цитокининов на 1-2-е сутки после обработки является кратковременным. Обработка 6-БАП увеличивает уровень ауксинов и цитокининов. Возрастание АБК наблюдается только в течение 1-4 суток после внесения. При затоплении АБК и 6-БАП проявляют одинаковый эффект на уровень ауксинов и цитокининов, увеличивая их содержание. Опрыскивание АБК и 6-БАП приводит к возрастанию в побегах абсцизовой кислоты, снижение концентрации гормона наблюдается только через 6 суток после обработки. Следствием изменения концентрации отдельных фитогормонов после внесения веществ являются отклонения в соотношении. Обработка 6-БАП увеличивает отношение ИУК+3-ЗР/ИУК как при оптимальных условиях, так и при затоплении. Внесение АБК при 60-80% НВ снижает соотношение гормонов, в условиях затопления и засухи оказывает противоположное действие. Экзогенные вещества оказали противоположное действие на расходование воды: АБК снизила, а 6-БАП увеличил интенсивность транспирации вне зависимости от фона влажности. Обработка АБК и 6-БАП при засухе и затоплении привела к нормализации водного обмена, что проявилось в возрастании оводненности и снижении водного дефицита. Обработки АБК и 6-БАП на оптимальном фоне влажности почвы оказали противоположное влияние на рост и продуктивность пшеницы и овса. При внесении АБК и 6-БАП на фоне затопления антагонизма не наблюдалось. Растения, обработанные 6-БАП и АБК, отличались постепенным увеличением массы. Однако внесение 6-БАП оказало большее стимулирующее влияние по сравнению с АБК. Таким образом, обработка АБК при затоплении оказывает иное влияние по сравнению с внесением на оптимальном фоне, проявляя стимулирующий ростовой эффект. В то же время действие 6-БАП при разных фонах влагообеспеченности не отличается по направленности, однако, степень возрастания темпов роста выше при переувлажнении. Большую отзывчивость на обработку при затоплении проявляет пшеница как менее устойчивая культура по сравнению с овсом. Можно полагать, что обработка АБК и 6-БАП при переувлажнении и АБК при засухе снижает отрицательное влияние стресс-факторов, способствует возрастанию темпов роста в стрессовой ситуации и повышению устойчивости.

## ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОТВЕТЫ НА ДЕЙСТВИЕ ЗАСУХИ ВИДОВ РОДА *AVENA* В СВЯЗИ С РАЗЛИЧНЫМ ПРОИСХОЖДЕНИЕМ

Бахтенко Е.Ю., Зейслер Н.А.

ГОУ ВПО Вологодский государственный педагогический университет,  
ул. С. Орлова, 6, 160035, Вологда, тел. (8172)769196

E-mail: [bakhtenko@yandex.ru](mailto:bakhtenko@yandex.ru) (Бахтенко Е.Ю.), [zejsler@yandex.ru](mailto:zejsler@yandex.ru) (Зейслер Н.А.)

Необходимость изучения дикорастущих видов, обладающих широким диапазоном адаптаций к действию неблагоприятных факторов, приспособленностью к разнообразным почвенно-климатическим условиям, вызвана интересом селекционеров к их практическому использованию. Целью исследований являлось сравнение физиологических реакций на действие засухи культурных и дикорастущих видов рода *Avena*. Объектами исследования являлись виды овса из коллекции ВНИИР им. Н.И. Вавилова: *A. sativa* L. s. Borrus (42 pl), *A. byzantina* C. Koch. (42 pl), *A. fatua* L. (42 pl), *A. strigosa* Schreb. (14 pl). Растения выращивали методом почвенных культур в условиях лабораторного эксперимента. Почвенную засуху создавали путем прекращения полива на 11-е сутки после появления всходов и поддерживали в течение 5 суток. Влажность почвы при этом постепенно снижалась с 70% до 30% почвенной влагоемкости. Исследовали влияние нарастающей засухи на сухую и сырую массу побега и корневой системы, прирост листа третьего яруса, оводненность (Ов) побега и корневой системы, вододерживающую способность (ВУС), интенсивность эвапотранспирации, продуктивность транспирации (ПТ), транспирационный коэффициент (ТК), хлорофилльный индекс (ХИ), чистую продуктивность фотосинтеза (ЧПФ). Определяли содержание фотосинтетических пигментов, свободного пролина, фитогормонов: абсцизовой кислоты (АБК), ауксинов, зеатина и зеатинрибозида.

Сорта культурных *A. sativa* и *A. byzantina* в фазу 3-х листьев характеризуются большой сухой и сырой массой побега, площадью листовой поверхности, высокой ПТ и ХИ, низким ТК на фоне повышенного содержания АБК и низкого соотношения гормонов. У *A. fatua* и *A. strigosa* наблюдалась противоположная закономерность. Под действием 5-дневной засухи у всех видов рода *Avena* проявились неспецифические реакции: снижение темпов роста (сухой и сырой массы побега, сырой массы корня, площади листовой поверхности, прироста нового листа), Ов побега и корневой системы, интенсивности эвапотранспирации, ТК, содержания пигментов, ХИ; возрастание сухой массы корневой системы, ВУС, ПТ, пролина. Это наблюдалось на фоне увеличения содержания АБК, снижения ауксинов

и цитокининов. Проявились видоспецифические реакции видов овса на действие засухи. Так, при недостаточной влажности почвы отмечалось снижение сухой массы корневой системы у *A. sativa*, увеличение ЧПФ у *A. fatua*. Кроме того, видовые отличия в ответной реакции на водный дефицит проявились в степени и времени изменения физиолого-биохимических показателей. Сравнительное исследование культурных и дикорастущих видов рода *Avena* позволяет выявить общие закономерности развития стрессовых реакций организма, обсудить влияние искусственного отбора на формирование устойчивости вида.

## **АДАПТИВНЫЕ РЕАКЦИИ РАСТЕНИЙ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ К ДЕЙСТВИЮ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА**

Бацманова Л.М., Таран Н.Ю.

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко; ул. Владимирская, 64, 01033 Киев-33, тел.: (044)5221427

E-mail: [l.batsmanova@gmail.com](mailto:l.batsmanova@gmail.com) (Бацмановой Л.М.)

Растениеводство на Украине, в большей степени, является экологически зависимым, поэтому необходимо учитывать влияние погодных и климатических отклонений на развитие растений в процессе онтогенеза, и надежность агроценозов повышать не только за счет максимального использования онтогенетической и филогенетической адаптации сельскохозяйственных культур к условиям внешней среды, но и искать пути экзогенной регуляции адаптивных реакций. Изучалось влияние окислительного стресса, индуцированного экзогенным пероксидом водорода, на активность прооксидантов-/антиоксидантов у растений сортов озимой пшеницы степного экотипа (Лада одесская, Тронка, Одесская 267, Херсонская безостая, Алмаз, Скала), произрастающих в условиях Украинского Полесья. С целью изучения процессов формирования неспецифической резистентности проводили опрыскивание надземной части растений раствором пероксида водорода ( $1 \cdot 10^{-4}$  М) два раза с интервалом в 3 дня. Контрольные варианты обрабатывались дистиллированной водой. Обработку растений производили весной (фаза кущения). Проведенные исследования показали, что после первой обработки наиболее стойкими к действию окислительного стресса являются сорта: Херсонская безостая, Одесская 267, Алмаз, у которых содержание ТБК-активных продуктов оставалось на уровне контрольных

вариантов. У растений сортов Скала, Лада одесская, Тронка наблюдалось увеличение их количества в 1,8, 1,3, 1,2 раза соответственно. После второй обработки наблюдалась стабилизация процессов перексидного окисления липидов у большинства сортов (Скала, Одесская 267, Алмаз), а у растений сортов Херсонская безостая и Тронка происходило снижение содержания ТБК-активных продуктов сравнительно с контрольными вариантами. Необходимо отметить, что на фоне увеличения количества ТБК-активных продуктов после первой обработки происходила активация супероксиддисмутазы (СОД) у всех исследуемых сортов, кроме Тронки, где ее активность снизилась на 30% по сравнению с контрольными вариантами. После повторной обработки активность СОД была на уровне контрольных вариантов у растений всех сортов. Таким образом, под действием пероксида водорода в физиологических концентрациях у растений сортов озимой пшеницы, произрастающих за пределами природных ареалов, адаптивная реакция направлена на стабилизацию равновесия в соотношении прооксидантов-/антиоксидантов.

## **ВЛИЯНИЕ АЗП НА ОСОБЕННОСТИ ПРОТЕКАНИЯ МИТОЗА И ЯДРЫШКОВЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КЛЕТОК КОРНЕЙ ПШЕНИЦЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ АЦЕТАТА КАДМИЯ**

Безрукова М.В., Фатхутдинова Р.А., Трофимова Н.В., Шакирова Ф.М.

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и генетики  
Уфимского научного центра РАН; Пр. Октября, 71, 450054 Уфа, тел./факс:  
(347)2356088

E-mail: [lectin@anrb.ru](mailto:lectin@anrb.ru) (Безруковой М.В.), [shakirova@anrb.ru](mailto:shakirova@anrb.ru) (Шакировой Ф.М.)

Кадмий, как известно, относят к наиболее токсичным элементам среди тяжелых металлов (ТМ), не выполняющим в растениях биологических функций. Повышенное содержание кадмия в среде обитания оказывает сильное повреждающее действие на растения, которое проявляется в торможении деления клеток, нарушении развития корневой системы и в целом задержке роста. Основываясь на полученных нами ранее данных об участии агглютинина зародыша пшеницы (АЗП) в регуляции деления клеток кончиков корней проростков пшеницы в норме и при засолении, важно было оценить, способен ли лектин, выделяемый в среду инкубирования проростков в ответ на действие кадмия, проявлять протекторный эффект на митотическую активность



меристематических клеток корней. Показано, что предобработка АЗП (1 мг/л) снижала степень негативного влияния ацетата кадмия (более сильно выраженного при действии 1 мМ ацетата кадмия, чем 0.5 мМ) на митотический индекс клеток кончиков корней проростков пшеницы, что проявлялось в нормализации прохождения клетками фаз митоза и в целом поддержании митотического индекса клеток на более высоком уровне в сравнении с необработанными лектином растениями. Анализ частоты цитогенетических нарушений в меристеме корней контрольных и испытывающих стрессовое влияние проростков пшеницы выявил наличие двухядерных клеток в варианте с воздействием кадмия, образование которых происходило, вероятно, вследствие нарушения цитокинеза. Вместе с тем, в подвергнутых действию кадмия клетках меристемы мы наблюдали появление нарушений митоза: асинхронной анафазы и телофазы, телофаз с двойными мостами. Предобработка АЗП приводила к уменьшению образования двухядерных клеток во время действия ТМ и ускорению нормализации цитокинеза после снятия стресса и предотвращала появление патологических митозов. Обработка АЗП оказала стимулирующее влияние на функциональную активность рибосомных генов, приводя к увеличению количества и размеров ядрышек, и отношению площади ядрышек к площади ядра (Сяш/Ся) относительно контроля. Предобработка лектином предотвращала значительное снижение ядрышковой активности при воздействии ацетата кадмия, поддерживая показатель Сяш/Ся на уровне близком к контролю. Совокупность полученных данных свидетельствует о способности АЗП уменьшать количество цитогенетических нарушений, вызываемых кадмием и вовлечении этого белка в стресс-устойчивость растений к ТМ.

## **РЕГУЛЯЦИЯ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОЙ ФУНКЦИИ МИТОХОНДРИЙ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТОЙ**

Белозерова Н.С., Баик А.С., Шугаев А.Г., Пожидаева Е.С., Кузнецов В.В.

Учреждение Российской академии наук Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, ул. Ботаническая 35, 127276 Москва, тел.: (499) 231-83-04

E-mail: [n\\_belozerova@list.ru](mailto:n_belozerova@list.ru)

Митохондрии растений, будучи одним из центров энергетического метаболизма, играют ключевую роль в ответе растений на стрессовые

воздействия биотической и абиотической природы, а также выступают в качестве центральных органелл в процессе программируемой клеточной смерти. Перестройка метаболических процессов митохондрий возможна за счет широкого спектра нефосфорилирующих путей транспорта электронов. Одни из них является окисление убихинола с восстановлением кислорода до воды посредством альтернативной оксидазы (АОХ). Активность альтернативного пути переноса электронов (АП) возрастает при действии стрессов различной природы: низкие температуры, условия окислительного стресса, ограничение элементов питания, при обработке гербицидами и при различных инфекциях. Впервые АП был обнаружен при термогенезе ароидных во время цветения. Роль сигнальной молекулы, индуцирующей экспрессию генов АОХ и увеличение ее активности в этом случае играет салициловая кислота (СК). Показано, что при инфицировании патогенами сигналом в индукции АП так же может служить СК.

В наших экспериментах было показано, что СК оказывает влияние на дыхание изолированных семядолей люпина желтого (*Lupinus luteus* L.). При действии 1мМ СК в течении 12 ч наблюдалось увеличение активности цианидрезистентного дыхания по отношению к общей скорости дыхания (ЦРД) на 38%. При расчете скорости дыхания на сухой вес, мы получили увеличение скорости цитохромного пути на 32%, а АП на 132%. Не согласующиеся, казалось бы, изменения ЦРД с данными об изменении скорости каждого из путей в отдельности, являются следствием неодинакового изменения скорости каждого пути в сравнении с контролем, а также значительного вклада в этот показатель «остаточного» дыхания ткани. Такое увеличение максимальной скорости АП возможно либо посредством синтеза белка АОХ *de novo*, либо за счет изменения активности уже существующего фермента. Результаты вестерн-блот анализа показали, что содержание белка не увеличивается при действии гормона по сравнению с контролем, из чего можно предположить, что происходит изменение его активности. Возможно, что при действии СК происходило восстановление дисульфидной связи димера и образование мономерных форм АОХ, что сильно увеличивает активность фермента. В дальнейшем планируется провести ряд экспериментов для проверки данного предположения.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке грантов РФФИ № 10-04-00665, 09-04-00410, 10-04-00594.

## **АДАПТИВНОСТЬ РАСТЕНИЙ ЧАЯ (*Thea sinensis* L.) И ВОЗМОЖНОСТЬ ЕЕ РЕГУЛЯЦИИ**

Белоус О.Г.

ГНУ ВНИИ цветоводства и субтропических культур Россельхозакадемии, г. Сочи, ул. Я. Фабрициуса, 2/28, тел.: 8(918)1059115, факс: (8622)964246,

E-mail: [Oksana191962@rambler.ru](mailto:Oksana191962@rambler.ru)

Использование физиологических методов в периоды низкой влажности почвы, воздуха и высоких температур позволяет установить влияние стрессоров абиотической природы на состояние растений чая и выявить особенности формирования ими устойчивости.

Высокая активность каталазы в листьях чая одних участков, по сравнению с другими, свидетельствуют о более ощутимом стрессе, что выражается в усиленном накоплении перекисей и, соответственно, в повышении ферментативной активности. При усилении засухи, происходит ингибирование активности фермента. В этих условиях, механизмом, препятствующим его инактивации, является некорневое внесение микроэлементов, например, марганца и цинка, которые оказывают положительное влияние на ферментативную активность растений чая, что способствует повышению их адаптивности к неблагоприятному воздействию засухи. Еще одним фактором, влияющим на активность каталазы, является внесение макроэлементов: в засуху предпочтительнее использовать сочетание двойных доз азота, фосфора и калия, что создает оптимальное соотношение элементов, активизирующее окислительно-восстановительные процессы чайного растения при обезвоживании. В течение вегетации происходит значительное накопление в листьях чая хлорофиллов. Причем наибольшее их содержание достигается в августе, затем следует некоторый спад в синтезе этой группы пигментов, что связано с особенностями биологии чайного куста. По мере старения листа происходит потеря хлорофилла, и данный процесс продолжается до апреля. Иная картина выявлена в динамике каротиноидов: их значительное увеличение отмечено в июле-августе, что связано с наступлением засушливого периода. Усиление накопления каротиноидов отмечено и в зимний период. Выявленные закономерности являются общими для всех растений чая. На состояние пигментной системы и динамику накопления пигментов влияют сортовые различия, условия произрастания и агротехнические мероприятия. Внекорневые обработки цинком и марганцем способствуют существенному увеличению

мощности пигментной системы; обработка этими элементами влияет на степень защиты пигментной системы, связанной с противодействием стрессу, вызванному водным дефицитом; изменяется стабильность пигментной системы, что в засушливый период существенно влияет на устойчивость растений чая. Способствуя сохранению высокого содержания хлорофилла, марганец и цинк продлевают функциональную активность листьев чая. На синтез пигментов существенно влияют и макроэлементы. Внесение азота на фоне фосфорного и калийного удобрений увеличивает содержание пигментов, причем увеличение доз азота выше 300 кг на 1 га приводит к дальнейшему увеличению концентрации пигментов. Для процесса накопления хлорофиллов азотные удобрения являются более значимыми, что подтверждается высокой коррелятивной зависимостью между этими процессами. На накопление каротиноидов влияет применение калийных удобрений, что в стрессовый период стимулирует защитные реакции растительного организма.

## **СРЕДООБРАЗУЮЩИЙ ПОТЕНЦИАЛ СОРГОВЫХ КУЛЬТУР В УСЛОВИЯХ ФИЗИЧЕСКОЙ ДЕГРАДАЦИИ И ЗАСОЛЕНИЯ ПОЧВ**

Белоусов В.С., Швец А.А.

ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт биологической защиты растений Россельхозакадемии; 350039 Краснодар-39 ВНИИБЗР, тел.: (861)2282103, факс: (861)2281787

E-mail: [vsbelousov@mail.ru](mailto:vsbelousov@mail.ru) (Белоусову В.С.)

В условиях антропогенно упрощенной структуры растительного покрова и токсикации окружающей среды происходит ослабление потенциала восстановления и стабилизации почвенного покрова, являющейся экологической основой существования биосферы планеты. В Краснодарском крае площадь почв с неблагоприятными водно-физическими свойствами составляет 14-17% общей площади сельскохозяйственного использования. Традиционные способы интенсификации земледелия не способны оздоровить почвы. Необходима фитомелиоративная направленность сельскохозяйственной деятельности. Потенциал реализации неблагоприятных почвенно-климатических условий среды у сорговых культур исключительно высок и их возделывание изменяет свойства почв, устраняя условия

экстремального состояния. Двухлетнее выращивание сорговых культур снижает объемную массу почв с 1,35-1,40 г/см<sup>3</sup> до 1,15-1,20 г/см<sup>3</sup>. В условиях сульфатно-хлорного и гидрокарбонатного засоления содержание токсичных ионов гидрокарбонатов уменьшается в два раза, хлорид ионов в 2-3 раза. Растения в неблагоприятных условиях среды нуждаются в оптимизации гормонального статуса и снижении интенсивности воздействия стрессов. Установлена индивидуальная реакция сорговых культур на комбинацию ионокулянтов, состоящих из ризосферных бактерий класса *PG PR Pseudomonas* и эндомикоризных грибов *Glomus intraradices* на зерновом и сахарном сорго и сорго-суданковых гибридах. Наиболее эффективно совместное применение *Pseudomonas Fluorescens 38a* (продуцент пиолютеорина) + *Glomus intraradices 7*. Комбинация этих штаммов мобилизовала недоступные растениям фосфаты, подавляя развитие патогенных грибов, что способствовало повышению продуктивности растений в зависимости от типа почв на 13-18%.

В последующие годы ареал возделывания сорговых культур вследствие аридизации климата постоянно возрастает и в сельскохозяйственных технологиях возможности этих культур устранить процессы деструктивной трансформации агроландшафтов и повышать ресурсный потенциал почвенного покрова должен учитываться.

## **УСТОЙЧИВОСТЬ К ФОТООКИСЛИТЕЛЬНОМУ СТРЕССУ МОРСКИХ КРАСНЫХ ВОДОРОСЛЕЙ В ТЕЧЕНИЕ ДНЯ**

Белоциценко Е.С., Яковлева И.М.

Институт биологии моря им. Жирмунского ДВО РАН; ул. Пальчевского 17, 690041 Владивосток, тел.:(4232)310931, факс.:(4232)310900

E-mail: [belotsitsenko\\_es@mail.ru](mailto:belotsitsenko_es@mail.ru) (Белоциценко Е.С.), [yakovleva72@mail.ru](mailto:yakovleva72@mail.ru)

В литоральной зоне в течение дня макроводоросли подвергаются воздействию высоких интенсивностей солнечной радиации и резким колебаниям температуры, которые могут вызывать фотоокислительный стресс, ведущий к фотоингибированию и деструкции фотосинтетического аппарата растений. В экспериментах на высших растениях и микроводорослях показано, что уровень продукции АФК и способность к их нейтрализации являются определяющими в устойчивости организмов в условиях дневных флуктуаций факторов среды. Однако до настоящего

времени исследования механизмов стресс-устойчивости макрофитов в течение дня велись только с точки зрения оценки функционального состояния фотосинтетического аппарата, процессов фотоингибирования и роли каротиноидов в процессах диссипации избыточной световой энергии. В нашей работе были исследованы механизмы устойчивости к фотоокислительному стрессу в течение яркого солнечного дня у морских красных водорослей с точки зрения активности их антиоксидантных систем (АОС), на примере *Grateloupia divaricata* и *Laurencia nipponica* Японского моря, широко используемых как источники биологически активных веществ. Физиологическое состояние водорослей оценивали с точки зрения изменения максимальной скорости нетто-фотосинтеза ( $P_{max}$ ) и содержания МДА – индикатора перекисного окисления липидов в тканях. Измеряли содержание супероксидного аниона ( $O_2^-$ ) и  $H_2O_2$  в тканях водорослей. Анализ активности антиоксидантных (АО) ферментов (СОД, КАТ, ГР) и содержания антиоксидантов (аскорбата, АС и глутатиона, ГЛ) проводили стандартными методами спектрофотометрии. Обнаружено, что *L. nipponica* сохраняет стабильно высокий уровень фотосинтетической продукции в течение дня, а для *G. divaricata* характерна полуденная депрессия  $P_{max}$ , сопровождающаяся накоплением МДА,  $O_2^-$  и  $H_2O_2$  в тканях водоросли, что свидетельствует о большей стресс-чувствительности. Установлено, что низкая устойчивость *G. divaricata* к фотоокислительному стрессу в полуденное время связана с ингибированием СОД, инактивацией КАТ и накоплением  $H_2O_2$ , образующейся в процессе фотодыхания. Устойчивость *L. nipponica* к высоким интенсивностям света в условиях повышенной температуры воды в солнечные дни летних месяцев обеспечивается высокой активностью компонентов аскорбат-глутатионового цикла (АГЦ), осуществляющих детоксикацию  $H_2O_2$  в хлоропластах. В этих условиях эффективность работы АГЦ определяется в первую очередь размером пулов АС и ГЛ, скоростью их регенерации, а также активностью ГР, принимающей активное участие в восстановлении ГЛ. Показано, что общей закономерностью для *G. divaricata* и *L. nipponica* является повышение активности АО ферментов и увеличение пула антиоксидантов к полудню и падение их к вечеру. Такие изменения не были зарегистрированы в пасмурную погоду при освещенности ниже насыщающей фотосинтез, что свидетельствует об отсутствии эндогенной ритмики данных процессов. Предполагается, что обнаруженные ритмические изменения в регуляции АОС водорослей обусловлены изменением интенсивности падающей радиации и колебанием температуры воды в течение дня.

## НЕКОТОРЫЕ ПОПУЛЯЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ВЕЙНИКА НАЗЕМНОГО (*Calamagrostis epigeios* (L.) Roth) НА ДЕГРАДИРОВАННЫХ УГОЛЬНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТЬЮ ТЕРРИТОРИЯХ

Бешлей С.В.\*, Баранов В.И.\*\*

\*Институт экологии Карпат НАН Украины. ул.Козельницкого 4, г.Львов, 79026, Украина.

\*\* Львовский национальный университет им. И. Франко, ул. Грушевского, 4, г.Львов, 79005, Украина, тел. (032) 2394373.

E-mail: [beshley.stepan@gmail.com](mailto:beshley.stepan@gmail.com) (Бешлею С.В). [bio.Lwiw@mail.ru](mailto:bio.Lwiw@mail.ru)

Червоноградский горнопромышленный район является экологически негативным районом вследствие большого количества породных отвалов угольных шахт, которые отрицательно влияют на окружающую среду. Породные отвалы угольных шахт это своего рода модель многофакторного стресса на растения, так как их субстраты содержат высокое количество тяжелых металлов, кислотность их высокая, водопроницаемость, при доминировании каменистой части, почти провальная, и практически отсутствует органическая часть. Одним из первых пионерных видов, которые поселяются на отвалах является многолетнее растение вейник наземный (*Calamagrostis epigeios* (L.) Roth.), обладающий большой экологической и фитоценотической пластичностью. Понять как происходит его адаптация к неблагоприятным факторам отвала можно на основе как индивидуальных, так и групповых признаков. Поэтому актуальным является изучение структуры его популяций на отвалах с неоднородной степенью рекультивации и естественного зарастания. В условиях антропогенного давления стратегия выживания особей, как правило, меняется. На уровне популяций это проявляется в изменении плотности, жизненности, типа самоподдержания, характера возрастных спектров, поскольку эти параметры популяций наиболее изменчивы и поэтому стали целью наших исследований. Объектом исследований были популяции вейника наземного на отвалах шахт «Надежда», «Визейская», и Центральной обогатительной фабрики (ЦОФ) возле г. Сосновка Львовской области, которые отбирались по степени рекультивации и этапам естественного зарастания. Предметом изучения была возрастная структура, плотность, индекс восстановления и виталитет данных популяций, как одни из критериев стратегии вида в условиях техногенного едафотоп. Их изучение проводили по общепринятым методикам. Возрастные спектры исследуемых популяций на отвалах указывают на то, что большинство из них являются молодыми (инвазивного типа) и самоподдержания их

происходит путем вегетативного размножения корневищами, обеспечивая высокую численность и плотность популяций, независимо от состояния генеративной сферы. Рост плотности в популяциях *C. epigeios* является адаптивным процессом к негативным факторам техногенного едафотопя. Индексы восстановления в изученных популяциях отражают интенсивные динамические процессы, происходящие в их структурно-функциональной организации и в организации сообществ, которые формируются на разных этапах сукцессий растительности породных отвалов.

## **ПРОФИЛЬ ЭКСПРЕССИИ НЕКОТОРЫХ СТРЕСС-ИНДУЦИРУЕМЫХ ГЕНОВ РАСТЕНИЙ *Arabidopsis*, ВЫРАЩЕННЫХ В УСЛОВИЯХ ПРОЛОНГИРОВАННОГО ВОДНОГО СТРЕССА**

Бобровницкий Ю.А.

Институт ботаники им. Н. Холодного НАН Украины, ул. Терещенковская 2, 01601 Киев, тел./факс (044)2723236

E-mail: [bobrownyzky9@hotmail.com](mailto:bobrownyzky9@hotmail.com)

Анализ функции стресс-индуцируемых генов важен для понимания молекулярных механизмов толерантности к стрессу. Как считается, сотни генов принимают участие в реакции на водный стресс [Seki *et al.*, 2002].

Растения *Arabidopsis thaliana* широко используются в физиологии растений, так как молекулярная биология и генетика данного вида хорошо изучены [Zhang *et al.*, 2004]. Несмотря на преимущества *A. thaliana*, нам известны лишь немногочисленные попытки имитировать условия природного водного стресса на растениях, которые выращиваются на стерильной агаризованной среде [Ascenzi and Gantt, 1999; Vartanian *et al.*, 1994]. В большинстве экспериментов высушивание происходит следующим образом: растение вынимают из ростовой среды и кладут на фильтровальную бумагу при контролируемых температуре, влажности воздуха и интенсивности освещения Seki *et al.*, 2002). Этот способ представляет собой, на наш взгляд, очень упрощенную модель природного водного стресса. Поэтому в наших опытах мы использовали метод, при котором проростки *A. thaliana* выращиваются на агаризованном субстрате с постепенным снижением влажности последнего на протяжении 5 дней.

В данном эксперименте характеризуется реакция проростков на водный стресс через изучение экспрессии методом real-time PCR следующих генов: транскрипционного фактора DREB2A; AtP5CS, Δ-пироллин-5-карбоксилат



синтетазы, ключевого фермента биосинтеза пролина; Rd29A, белка, который индуцируется АБК, а также водным и осмотическим стрессом; ERD1, белка с активностью АТФазы и шаперона. В условиях острого водного дефицита экспрессия этих генов повышалась по меньшей мере в 5 раз по сравнению с контролем, как определили японские исследователи методом microarray [Seki *et al.*, 2002]. В нашем опыте с продолжительным воздействием фактора обезвоживания разница в уровнях экспрессии между стрессом и контролем была значительно меньшей. Это свидетельствует о том, что профиль генной экспрессии растений *A. thaliana* в условиях острого и пролонгированного водного стресса может отличаться.

## **ВЛИЯНИЕ ИОНОВ КАДМИЯ НА СОСТАВ ЛИПИДОВ И ЖИРНЫХ КИСЛОТ В ФОРМИРУЮЩИХСЯ ЛИСТЬЯХ ПАПОРОТНИКА *MATTEUCCIA STHRUTHIOPTERIS***

Богданова Е.С.\*, Розенцвет О.А.\*, Мурзаева С.В.\*\*

\* Институт экологии Волжского бассейна РАН, ул. Комзина. 10. 445003 Тольятти, тел.: (8482)489209; факс: (8482)489504

\*\* Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, 142290 Пущино Московской области

E-mail: [cornales@mail.ru](mailto:cornales@mail.ru), [olgarozen@pochta.ru](mailto:olgarozen@pochta.ru)

Одним из токсичных элементов для растений считается кадмий. Ионы кадмия ( $Cd^{2+}$ ) влияют на активность фотосинтетической электронной транспортной цепи, подавляют ключевые ферменты цикла Кальвина, образование антоцианина и хлорофилловых пигментов, замедляет процессы фотосинтеза, транспирации и фиксации  $CO_2$  и т.д. Многие из этих эффектов связаны с влиянием  $Cd^{2+}$  на мембранный генезис и целостность биологических мембран, что во многом определяется составом липидов, как основного структурообразующего компонента

Цель работы – исследовать качественный и количественный состав липидов и жирных кислот в листьях папоротника *Matteuccia sthruthiopteris* (L.) Todaro (страусник обыкновенный), формирующихся под действием ионов кадмия.

Растения папоротника выращивали на среде Кнопа в отсутствие и присутствии 100 мкМ нитрата кадмия в течение 10 суток.

Показано, что до 80% металла аккумулируется в корневых волосках растений (51,4 мкг/г сухой массы). В молодых улиткообразно закрученных листьях (улитки) и взрослых листьях обнаружено 1,2 и 9,0 мкг  $Cd^{2+}$  на г сухой

массы. Биомасса взрослых листьев увеличивалась в среднем на 60% по сравнению с контролем.

Для анализа липидов и жирных кислот (ЖК) использовали ткани фотосинтезирующих органов (улитки и сегменты взрослого листа - верхние, срединные и нижние). При формировании листьев под действием  $Cd^{2+}$  отмечено увеличение количества общих, нейтральных липидов, галактолипидов, бетаинового липида ДГТС и разнонаправленные изменения в количестве фосфолипидов (ФЛ). Кроме того, под действием  $Cd^{2+}$  в улитках и во всех сегментах целого листа увеличивалось содержание триацилглицеринов (в 2 и более раз), свободных стериннов и их эфиров. В растущих зонах взрослых листьев наблюдали количественное уменьшение таких ФЛ, как фосфатидилхолины (ФХ), фосфатидилэтаноламины (ФЭ), фосфатидилглицеролы (ФГ) и фосфатидилинозитолы (ФИ). В то же время во взрослом листе, особенно в срединной части, отмечено увеличение содержания ФХ, ФЭ, ФГ и ФИ.

ЖК представлены кислотами  $C_{16}$ - $C_{18}$  (около 80%) и типичными для этой группы растений длинноцепочечными кислотами  $C_{20}$ - $C_{24}$  (20%). Действие  $Cd^{2+}$  вызывало существенное снижение доли полиеновых кислот на фоне увеличения содержания моноеновых кислот, хотя, в целом, мало отразилось на ненасыщенности ЖК в фотосинтезирующих тканях растения.

## **ИССЛЕДОВАНИЕ ГАЗООБМЕНА У ЛИСТЬЕВ КАРЕЛЬСКОЙ БЕРЕЗЫ И БЕРЕЗЫ ПОВИСЛОЙ В АНОМАЛЬНО ЖАРКОЕ ЛЕТО 2010 Г.**

Болондинский В.К., Придача В.Б, Позднякова С.В., Виликайнен Л.М.

Учреждение Российской академии наук Институт леса Карельского научного центра РАН, Петрозаводск, Пушкинская 11, 185910, Факс: (8142)768160, тел. Факс: (8142)768160,

e-mail: [bolond@krc.karelia.ru](mailto:bolond@krc.karelia.ru)

Карельская береза (БК), считающаяся по мнению большинства исследователей разновидностью или наследственной формой березы повислой (БП), имеет свилеватую структуру древесины, меньшее количество сосудов ксилемы. Можно предположение, что скорость водного тока по ксилеме у данной породы ниже, чем у БП, и при определенных условиях устьичная проводимость, а следовательно и фотосинтез, у нее будут ограничены. Целью нашей работы являлось изучение взаимовлияний

морфологических отклонений и фотосинтетической функции у березы повислой при разной водообеспеченности растений.

Исследования газообмена проводились вблизи г. Петрозаводска с помощью газометрической портативной системы LI 6400ХТР (фирма Li-Cor, USA) в июле-августе, когда дневные температуры часто превышали 30°C, а ночные – колебались в диапазоне 18-25 °С. Двухлетние сеянцы БП и БК осенью 2009 г. были пересажены в вегетационные сосуды емкостью 6,5-10 л. Саженьцы находились под прозрачным навесом и содержание влаги в почве регулировалось поливом. Когда запасы влаги в сосудах составляли 1,1 – 1.4 л и были близки к полевой влагоемкости, саженьцы не испытывали полуденного угнетения, несмотря на очень высокий дефицит водяных паров в воздухе – до 3 кПа. У карельской березы в 9:00 и 15:00 фотосинтез составлял 10,3 и 21,1 мкмоль м<sup>-2</sup> с<sup>-1</sup>, соответственно, у б. повислой – 10,5 и 12,9 мкмоль м<sup>-2</sup> с<sup>-1</sup>. Устьичная проводимость ( $g_s$ ) была значительной и составляла у БК и у БП в 9 часов 0.49 и 0.46 в 15 часов 0.38 и 0.24 ммоль м<sup>-2</sup> с<sup>-1</sup>, соответственно. Факт роста фотосинтеза при уменьшении  $g_s$  говорит о значительном уменьшении в дневные часы мезофильного сопротивления, связанного в первую очередь с концентрацией и скоростью регенерации РУБИСКО. Причем, особенно ярко это выражено у карельской березы. При уменьшении оводненности почвы ситуация менялась – утренний фотосинтез становился больше дневного,  $g_s$  уменьшалась к полудню в ряде случаев в 2-3 раза. Корреляция  $g_s$  с транспирацией и с фотосинтезом сохранялась достаточно высокой (0,91-0,98) в широком диапазоне влажности почвы.

По мере снижения водного запаса до 0.7-0.9 л на сосуд фотосинтез и транспирация уменьшались вслед за снижением устьичной проводимости в среднем на 20-30% у БП и почти на 50 % у БК. По мере нарастания водного стресса фотосинтез у БК становился меньше, чем у БП,  $g_s$  снижалась до 0,01-0,03 ммоль м<sup>-2</sup> с<sup>-1</sup>, особенно сильно у БК. Слабая транспирация фиксировалась вплоть до пожелтения листьев при отрицательном CO<sub>2</sub>-газообмене.

Таким образом, адаптационная стратегия карельской березы направлена на оптимизацию фотосинтетической функции при достаточном водообеспечении и на достаточно жесткую экономию влаги при ухудшении оводненности растения.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 09-04-01643; 10-04-10122

## **УЧАСТИЕ ОКСИДА АЗОТА (NO) В СТРЕССОВЫХ РЕАКЦИЯХ ОТСЕЧЁННЫХ ЛИСТЬЕВ ПШЕНИЦЫ (*Triticum aestivum* L.) НА ОБЕЗВОЖИВАНИЕ**

Бояршинов А.В., Боброва З.С., Асафова Е.В.

Казанский (Приволжский) Федеральный университет, кафедра физиологии и биотехнологии растений; ул. Кремлёвская, 18, 420008 Казань, тел.: (843)2315298, факс: (843)2387121

E-mail: [ossian@mail.ru](mailto:ossian@mail.ru) (Бояршинову А.В.), [angel-so@mail.ru](mailto:angel-so@mail.ru), [Elena.Asafova@ksu.ru](mailto:Elena.Asafova@ksu.ru)

Восприятие и передача стрессового сигнала в растениях осуществляется через сопряжённое функционирование сигнальных метаболических путей, одним из которых является NO-сигнальная система, «включающаяся» при действии разнообразных биотических и абиотических факторов. Известно, что сама молекула NO обладает значительной физиологической активностью и способна эффективно повышать сопротивляемость растений к стрессорам. Однако существует очень мало данных, показывающих функциональную роль молекулы оксида азота в реакциях сельскохозяйственно-ценных растений на засуху и водный дефицит. Целью работы было показать участие эндогенного оксида азота (NO) в ответной реакции отсечённых листьев пшеницы на обезвоживание и оценить эффект экзогенного донора NO нитропруссид натрия (SNP) на устойчивость листьев к водному стрессу. Отсечённые листья 8-суточных проростков яровой пшеницы сорта Дебют, выращенных на воде, подвергали нарастающему обезвоживанию, путём подсушивания в климатической камере «Биотрон-3», и последующей регидратации, помещая их в пробирки с дистиллированной водой. Содержание NO в листьях определяли с помощью реактива Грисса. В ходе завядания и регидратации происходило снижение (до 51.6%) и восстановление исходного относительного содержания воды (ОСВ) в листьях. Наблюдали повышение содержания эндогенного NO в листьях в 1.9 раза к 1 и 2 ч и последующее его снижение до начального уровня к 3 ч обезвоживания. Такое же обратимое повышение уровня NO (в 2.1 раза) происходило в ходе последующей регидратации завядших листьев. Одинаковая реакция NO-сигнальной системы на два взаимоположенных процесса свидетельствует о включении общих адаптивных механизмов в ответ на изменение водного статуса. В последующем установлено, что уровень оксида азота в листьях возрастает уже через 15 мин обезвоживания и по времени следует за падением (ОСВ), что, наряду с отрицательным коэффициентом корреляции ( $r=-0.71$ ), указывает на тесную связь между ОСВ и NO на начальном этапе завядания.

Предварительная инфильтрация листьев пшеницы раствором SNP (50-250 мкМ) приводила к повышению их водоудерживающей

способности, активации ферментов аскорбатпероксидазы и каталазы, снижению перекисного окисления липидов (ПОЛ) при последующем 3-х часовом обезвоживании. В ходе первых 30 мин завядания в листьях, инфильтрированных SNP, сохранялся повышенный по сравнению с контролем (инфильтрация водой) уровень эндогенного NO, что указывает на его участие в реализации антистрессового эффекта нитропруссидов. Полученные результаты показывают защитный эффект оксида азота на растения в условиях водного стресса, состоящий в снижении потери воды листьями и усилении системы антиоксидантной защиты.

## **ДЕЙСТВИЕ СИЛЬНОГО СВЕТА НА ТЕРМОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ФОТОСИНТЕЗА, УЛЬТРАСТРУКТУРУ ХЛОРОПЛАСТОВ, СОДЕРЖАНИЕ И ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ЛИПИДОВ В ЛИСТЯХ ПШЕНИЦЫ**

Буболо Л.С., Быков О.Д., Кислюк И.М., Каменцева И.Е., Котлова Е.Р.,  
Виноградская М.А.

Ботанический институт им.В.Л. Комарова; ул. Проф. Попова 2,  
197376 Санкт-Петербург, тел.: (812)3463665, факс: (812)3463643.

E-mail: [l\\_bubolo@mail.ru](mailto:l_bubolo@mail.ru) (Буболо Л.С.)

Видимый свет, интенсивность которого превышает насыщающую фотосинтез, вызывает временное увеличение устойчивости фотосинтетического аппарата к тепловому стрессу у растений, растущих на слабом свете. Листья пшеницы, выросшие при 25-35 Вт ФАР м<sup>-2</sup>, экспонировали в течение 1 ч при 370-600 Вт ФАР м<sup>-2</sup> и 25°C. Сразу после «светового шока» повысилась устойчивость фотосинтеза, фотосинтетического транспорта электронов и ультраструктуры хлоропластов к прогревам листьев при 40-46°C в темноте и на свету. Под действием избыточного освещения в большинстве хлоропластов увеличилась доля крупных (более 20 тилакоидов) гран и возросла протяженность состыкованных (appressed) мембран. Появились граны, состоящие из 40 и более тилакоидов, имеющие на срезе неправильную, часто ступенчатую форму. Ультраструктура пластид парадоксально приобрела «теневые» признаки. Часть хлоропластов оказалась поврежденной в результате действия «светового шока» при нормальной температуре. Однако после тестирующих прогревов (42-44°C на сильном свете или в темноте) доля хлоропластов с деструктивными изменениями в листьях, перенесших «световой шок», была меньше, чем в контроле. Увеличение объема тилакоидной системы хлоропластов в результате 1-часовой экспозиции листьев при 600 Вт ФАР м<sup>-2</sup>

сопровождалось увеличением содержания в листьях основных мембранных липидов. Одновременно произошло повышение уровня  $\alpha$ -линоленовой кислоты (18:3) в МГДГ, ДГДГ и ФХ. Последний факт наряду с обнаруженным увеличением количества пероксисом позволяет предположить участие жасмоната в развитии защитных реакций в клетках мезофилла под действием «светового шока». Термо- и фотопротектором является также зеаксантин, который отсутствует в хлоропластах пшеницы на слабом свете и накапливается в результате дезоксидации виолаксантина при действии на листья избыточного (не используемого полностью в фотосинтезе) света.

## **НАРУШЕНИЕ ПРОЦЕССОВ РОСТА И ТРАНСПОРТА ВОДЫ В РАСТЕНИЯХ ПРИ ЗАСОЛЕНИИ И БЛОКИРОВАНИИ КАЛЬЦИЕВЫХ КАНАЛОВ**

Будаговская Н.В.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Ботаническая, 35,  
127276 Москва, тел. (499)2318315, факс: (495)9778018

E-mail: [postnabu@mail.ru](mailto:postnabu@mail.ru)

Исследовалось влияние засоления (NaCl) на скорость роста и водный обмен растений ячменя, овса, риса, кукурузы и гречихи в кратковременных (ч) и более длительных (многодневных) экспериментах. Засоление нарушает поглощение и транспорт кальция в растениях, создавая его дефицит. В специальных экспериментах с использованием блокатора кальциевых каналов верапамила моделировались условия, приводящие к аналогичному эффекту. Зарегистрированы быстрые (мин) ответные реакции растений на засоление, заключающиеся в кратковременном снижении и последующем восстановлении тургора листьев растений, а также более медленные (ч) ответные реакции – снижение скорости роста надземной части растений и дальнейшее ее восстановление вследствие адаптивных процессов, связанных с биосинтезом *de novo* протекторных соединений. Растения, не способные синтезировать в условиях засоления осмопротектор глицинбетаин (рис), проявляли более низкую солеустойчивость. У них прекращался рост листьев при концентрациях соли, при которых рост листьев растений, способных синтезировать глицинбетаин, продолжался. У растений риса не было отмечено двухфазной ответной реакции листьев на внесение NaCl в зону корней. Добавление экзогенного глицинбетаина повышало солеустойчивость растений риса. Высокий уровень засоления приводил к значительному падению тургора листьев и сжатию их тканей вследствие снижения их оводненности. Транспорт воды в корнях растений при этом нарушался: водонагнетающая активность корней прекращалась и отмечалось обращение

водного потока. Рост растений в таких условиях угнетался. Уменьшение концентрации NaCl в наружной среде восстанавливало тургор листьев и увеличивало скорость роста растений. Верапамил в низких концентрациях вызывал кратковременное повышение и последующее снижение интенсивности транспорта воды в корнях и скорости роста растений, в высоких концентрациях подавлял полностью транспорт воды в корнях и рост растений. При высоких концентрациях верапамила снижался тургор листьев и стеблей, регистрировалось обращение транспорта воды в корнях. Таким образом, важной причиной снижения скорости роста растений при засолении является нарушение водного обмена, обусловленного высокими концентрациями NaCl в наружной среде и дефицитом кальция в тканях растений. Рассматривается участие кальциевых каналов в регуляции трансмембранного транспорта воды.

## **ВЛИЯНИЕ КАДМИЯ НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КОРНЕВОЙ СИСТЕМЫ У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *Medicago* L.**

Будкевич Т.А.\*, Таршис Л.Г.\*\*, Таршис Г.И.\*\*, Заболотный А.И.\*

\* Институт экспериментальной ботаники им.В.Ф.Купревича НАН Беларуси, ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Беларусь, тел.: +375 (17) 2842050, факс: +375 (17) 2841853

\*\* Уральский государственный университет им. А.М. Горького

E-mail: [recology@biobel.bas-net.by](mailto:recology@biobel.bas-net.by) (Будкевич Т.А.), [tarshis@etel.ru](mailto:tarshis@etel.ru)

Исследование влияния избытка кадмия в почве на азотфиксирующую активность и продуктивность растений рода *Medicago* L. (*M. sativa*, культурная и дикая формы *M. falcata*) позволило сделать заключение об определенной их устойчивости к этому токсиканту (Будкевич, Заболотный, 2009). Существенная роль в адаптации люцерны к повышению концентрации Cd в среде принадлежит корневой системе. На примере *M. sativa* показано, что основное количество инкорпорированного Cd сосредоточено в мелких поглощающих корнях (37,2-46,9%), где концентрация его при уровнях содержания в почве 0,3 (контроль) – 70 мг/кг возрастает с 14,4±0,3 до 63,8±0,8 мг/кг сухой массы. При этом в крупных корнях содержание Cd варьировало в пределах <0,5-6,2±0,1 мг/кг. В диапазоне 0,3-30,0 мг/кг Cd в почве часть кадмия, транспортируемого из мелких корней в крупные и далее в надземную часть растений, задерживается корнями. В этом состоит барьерная функция корней, которая реализуется у люцерны преимущественно в мелких корнях. С увеличением концентрации Cd в почве с 30 мг/кг до 50-70 мг/кг барьерная функция корней существенно

ослабевает и даже не проявляется, на что указывает отсутствие изменений в концентрации Cd в корнях и значительное повышение ее в стеблях и листьях. В этой связи представляло интерес сопоставление анатомических изменений, происходящих в корнях модельных растений под действием возрастающих доз Cd. На поперечных срезах, сделанных в базальной, средней и апикальной зонах главных корней, видно, что уже в апикальной зоне присутствуют изменения в структуре стели и первичной коры. Первичная 6-7-слойная кора вместе с однослойной ризодермой и корневыми волосками сбрасывается с поверхности корня, при этом многослойная перидерма в корнях люцерны, начиная с апикальной зоны, замещает однослойную ризодерму. В стели начинают активно делиться клетки камбиального слоя, что сопровождается образованием элементов вторичной ксилемы. В интервале доз кадмия в почве 15-30 мг/кг в апикальной и средней частях главного корня количество радиальных лучей вторичной ксилемы увеличивается, по сравнению с контролем, в 1,4-1,5 раза, в интервале 50-70 мг/кг Cd – в 2-2,5 раза. В базальной части проводящей зоны наблюдаемое уже при дозе 15 мг/кг отмечается 1,8-кратное увеличение числа ксилемных лучей и при дальнейшем усилении дозовой нагрузки. Гистохимический анализ корней дикой и культурной форм *M.falcata*, различающихся устойчивостью к Cd при почвенной засухе, выявил различный характер локализации Cd в структурных элементах коры и проводящей системы.

## **ВЛИЯНИЕ ЭПИНА ЭКСТРА НА РОСТ, УСТОЙЧИВОСТЬ И ПРОДУКТИВНОСТЬ РАСТЕНИЙ ОГУРЦА ПРИ ДЕЙСТВИИ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОГО СТРЕССА**

Будыкина Н.П., Алексеева Т.Ф., Титов А.Ф.

Учреждение Российской Академии наук Институт биологии Карельского научного центра РАН: ул. Пушкинская, 11, 185910 Петрозаводск, тел.: (8142)762712

E-mail: [timeiko@krc.karelia.ru](mailto:timeiko@krc.karelia.ru)

В контролируемых условиях внешней среды и в весенних пленочных теплицах исследовано влияние препарата эпина экстра, являющегося химическим аналогом 24-эпибрассинолида, на рост, устойчивость и продуктивность растений огурца (гибрида Королек). В первой серии опытов изучали влияние эпина экстра на посевные качества семян, рост проростков и холодоустойчивость растений, а во второй серии – его действие на рост, развитие и формирование продуктивности.



Установлено, что в условиях действия низких положительных температур обработка семян препаратом ускоряет их прорастание, стимулирует рост зародышевого корня и увеличивает биомассу проростка. Реакция растений огурца на обработку эпином экстра по признаку «холодоустойчивость» также в значительной степени зависела от температуры выращивания: при оптимальных для огурца температурах препарат не оказывал действия, а в условиях низких положительных температур (что типично для весенних не обогреваемых пленочных теплиц на северо-западе России) он вызывал достоверное повышение устойчивости к холоду. Так, растения, обработанные эпином экстра, без видимых повреждений перенесли недельное охлаждение до +7°C. Выявлено, что после заморозков интенсивностью –2.2 и –3.0°C (со льдообразованием в тканях) повреждение листьев в варианте с использованием препарата составило соответственно 0 и 11%, в то время как у контрольных растений – 29 и 73%.

Таким образом, препарат при использовании в рассадный период снижал негативное действие низких положительных температур и заморозков в период их наибольшей опасности (после высадки растений в теплицы в конце мая-начале июня).

Исследования также показали, что комбинированная обработка эпином экстра семян, рассады и вегетирующих растений стимулирует образование генеративных органов и вызывает феминизацию цветков, способствует формированию ранней продукции и повышению общей урожайности огурца. В условиях весенне-летнего оборота ранний урожай плодов в среднем за 3 года составил 3.1 кг/кв. м, общий за оборот – 12.7 кг/кв. м, превысив контроль на 35 и 21%, соответственно.

На основании проведенных исследований сделан вывод, что эпин экстра является высокоэффективным регулятором роста с четко выраженными адаптогенными свойствами.

## **СРАВНЕНИЕ РЕАКЦИИ ПРОРОСТКОВ РАЗЛИЧНЫХ СОРТОВ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ НА КРАТКОВРЕМЕННОЕ ДЕЙСТВИЕ УФ-Б РАДИАЦИИ**

Буцанец П.А., Королькова Д.В., Загоскина Н.В.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая 35, 127276 Москва, тел.: (495)9779433, факс: (495)9778018

E-mail: [p.corbeau@list.ru](mailto:p.corbeau@list.ru) (Буцанец П.А.)

Одним из сильных стрессовых факторов окружающей среды является УФ-радиация, действие которой нарушает физиолого-биохимические

процессы, способствует фотоокислению биополимеров (белков, фосфолипидов, ДНК), а также накоплению свободных радикалов. К числу веществ, защищающих клетку от развития окислительного стресса, относятся фенольные соединения, которые взаимодействуют с активными формами кислорода и свободными радикалами, а также поглощают коротковолновые УФ-Б лучи.

Целью нашей работы являлось сравнение ответной реакции различных сортов озимой пшеницы, выведенных и районированных для Нечерноземной зоны, на кратковременное действие УФ-Б лучей.

Объектами исследования являлись 7-дневные проростки сортов Московская (М39, М40, М56), Немчиновская (Н24, Н57) и Галина, которые подвергали кратковременному действию УФ-Б излучения (10 мин., доза 12,25 кДж/м<sup>2</sup>). В листьях растений определяли содержание фотосинтетических пигментов и фенольных соединений (фенилпропаноидов и флавоноидов).

Исследованные сорта озимой пшеницы отличались по содержанию фотосинтетических пигментов и фенольных соединений. Наибольшее накопление хлорофилла *a* и *b* отмечено в листьях проростков сорта Галина, тогда как у остальных сортов оно было ниже (на 15-20%) и практически одинаково. По содержанию фенольных соединений различия между сортами были выражены в значительно большей степени. Так, в листьях сортов Н57 и Галина их уровень был самым высоким и почти вдвое превышал таковой сортов М39 и М40, для которых отмечена самая низкая способность к накоплению этих веществ. В случае флавоноидов, одних из наиболее распространенных представителей фенольных соединений зеленых клеток растения, различия достигали 300% (сорта Н57 и Н24, соответственно с высоким и низким уровнем этих веществ).

Кратковременное действие УФ-Б лучей практически не влияло на накопление хлорофилла *a* и *b* в листьях проростков различных сортов пшеницы. Исключением являлся сорт Галина, у которого отмечено почти 20% снижение уровня хлорофилла *b*. Что касается фенольных соединений, то в этих условиях содержание фенилпропаноидов увеличивалось, тогда как содержание флавоноидов – снижалось (в обоих случаях в 1,5-2 раза, по сравнению с контролем), что свидетельствует о сходности ответных реакций клеток растений на действие УФ-Б лучей.

Следовательно, кратковременное действие УФ-Б радиации приводит к изменениям в метаболизме фенольных соединений, а именно к активации фенилпропаноидного пути и накоплению более простых форм фенольных соединений, что, в свою очередь, сопровождается снижением уровня флавоноидов.

## **ВИДОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ ТЕМПЕРАТУРНЫХ КРИВЫХ ДЫХАНИЯ РАСТЕНИЙ, ПРОЯВЛЯЮЩИЕСЯ ПРИ УСИЛЕНИИ ТЕПЛООВОГО СТРЕССА**

Быков О.Д.\*, Иваненко Ю.А.\*\*

\* Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН; ул. Проф. Попова 2, 197376 Санкт-Петербург, тел.: (812)3463643, факс: (812)3463643

\*\* Санкт-Петербургский государственный университет; Университетская наб. 7-9, Биолого-почвенный факультет, 199034 Санкт-Петербург, тел.: (812)3241270, факс: (812)3289703

E-mail: [odbykov@yandex.ru](mailto:odbykov@yandex.ru) (Быкову О.Д.)

Исследование проводили летом 2006 года на листьях или побегах сосудистых растений, относящихся к четырем отделам: плаунообразным, хвощеобразным, папоротникообразным и покрытосеменным. Всего было исследовано около 60 видов дикорастущих и культивируемых в Ленинградской обл. растений из 17 семейств. В исследование были включены представители семейств *Hyperziaceae*, *Lycopodiaceae*, *Equisetaceae*, *Ophioglossaceae*, *Nymphaeaceae*, *Ceratophyllaceae*, *Ranunculaceae*, *Rosaceae*, *Ericaceae*, *Lamiaceae*, *Acoraceae*, *Butomaceae*, *Hydrocharitaceae*, *Potamogetonaceae*, *Iridaceae* и др. Среди исследованных покрытосеменных были представители обоих классов, двудольных и однодольных, растения различных жизненных форм (древесные, травянистые, водные и земноводные травы) из архаичных и эволюционно продвинутых семейств. Дыхание определяли в темноте по скорости выделения  $\text{CO}_2$  в проточной системе газообмена при непрерывном повышении температуры ( $1^\circ\text{C}/\text{мин}$ ) испытуемого образца. Температурную кривую дыхания (ТКД) рассчитывали по данным самописца регистрирующего прибора (ГИАМ-5М) в интервале температур  $20\text{-}80^\circ\text{C}$ . Результаты работы выявили значительное разнообразие ТКД. С повышением температуры кинетика начального ( $20\text{-}40^\circ\text{C}$ ), среднего ( $40\text{-}60^\circ\text{C}$ ) и конечного ( $60\text{-}80^\circ\text{C}$ ) участков (условное деление) была неодинакова у разных видов. На первом участке скорость роста дыхания с температурой по величине коэффициента  $Q_{10}$  варьировала в пределах 1,3-2,3. Высокие значения  $Q_{10}$  на этом участке отмечены у копытня европейского, воронца колосистого, купальнице европейской; низкие – у печеночницы благородной, лютика едкого. С дальнейшим повышением температуры различия в кинетике дыхания усилились. Они проявились как в разнообразии формы ТКД, так и в величине ее параметров, в частности, – температуры достижения максимального значения ( $T_{\text{max}}$ ) и самой величины дыхания ( $R_{\text{max}}$ ). На

третьем участке ТКД усиливающийся тепловой стресс приводил к постепенному прекращению работы дыхательных систем. У одних видов дыхание после достижения максимальной величины быстро снижалось (барбарис обыкновенный), у других – спад дыхания был замедленным, а в отдельных случаях даже заменялся временным подъемом (лютик ядовитый).

## **СВЯЗЬ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА МАСЛА И ФИТОРЕМЕДИЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА ГЕНОТИПОВ РАПСА**

Вагун И.В., Кошкин Е.И.

ФГОУ ВПО РГАУ-МСХА им. К.А Тимирязева; 127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49, тел.: (495)9760480

E-mail: [vagun@timacad.ru](mailto:vagun@timacad.ru) (Вагуну И.В.)

На данный момент рапс (*Brassica napus* L. ssp. *oleifera*) является одной из перспективных масличных культур в мировом земледелии. Зеленая масса используется как зеленый корм и сидерат, из семян получают масло, используемое на пищевые и технические цели, а также для получения биотоплива. Кроме того, рапс является потенциальным фиторемедиатором, т.е. с его помощью возможна очистка почвы от тяжелых металлов (ТМ).

Работ, раскрывающих связь концентраций ТМ, фиторемедиационного потенциала и жирнокислотного состава масла, практически нет. Однако считается, что жирнокислотный состав масла в большей степени детерминируется генотипом, и в меньшей степени на него влияют условия окружающей среды. Фиторемедиационный потенциал зависит от концентраций ТМ в надземных органах растений и их биомассы.

Целью данной работы было изучение действия разных доз ТМ на отличающиеся по содержанию эруковой кислоты сорта рапса, для чего в 2010 г. был заложен вегетационный опыт в почвенной культуре, загрязненной ТМ. Расположение вариантов – рендомизированное, повторность опыта – четырехкратная. Растения убирали в фазе полной спелости. Схема опыта: контроль, Pb в дозах 100, 250, 400, 550 мг/кг почвы, Cd в дозах 2, 8, 14, 20 мг/кг, Zn в дозах 200, 400, 600, 800 мг/кг. Использовали сорта ярового рапса: *безэруковый* Подмосковный и *среднеэруковый* Голден (среднее содержание эруковой кислоты 26,5%).

При определении выноса тяжелых металлов надземной биомассой оказалось, что фиторемедиационный потенциал среднеэрукового сорта

Голден ниже, чем безэрукового сорта Подмосковный. Это объясняется во-первых, меньшим накоплением биомассы, а, во-вторых, меньшими концентрациями ТМ в тканях стеблей. Так, в вариантах с максимальными концентрациями ТМ, концентрация Pb в тканях стеблей у сорта Голден была на 17-26% ниже, чем у сорта Подмосковный, Cd – на 29-32%, Zn – на 12-34%. При этом накопление биомассы у сорта Голден в вариантах с Pb было на 0-7% ниже, Cd 4-11%, Zn 0-16%. Таким образом, меньший фиторемедиационный потенциал среднеэрукового сорта Голден объясняется, в основном, меньшим содержанием ТМ в надземных органах. Видимо, барьерные механизмы, препятствующие поступлению ТМ в надземные органы, у сорта Голден функционируют эффективнее, снижая поступление ТМ в надземные органы. Однако по отношению к токсическому действию Pb растения сорта Голден были менее, а к Cd и Zn – более толерантны, чем растения сорта Подмосковный, о чем можно судить по степени снижения накопления биомассы при возрастании доз ТМ.

## ИССЛЕДОВАНИЕ НОВОГО СЕМЕЙСТВА ЗАЩИТНЫХ ПЕПТИДОВ РАСТЕНИЙ

Василевский А.А.\*, Одинцова Т.И.\*\*, Белозерский М.А.\*\*\*, Арсеньев А.С.\*, Гришин Е.В.\*, Егоров Ц.А.\*

\* Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН; ул. Миклухо-Макляя 16/10, 117997 Москва, тел.: (495)3366540, факс: (495)3307301

\*\* Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН; ул. Губкина 3, 119991 Москва

\*\*\* Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ, Ленинские горы, 119899 Москва

E-mail: [avas@ibch.ru](mailto:avas@ibch.ru) (Василевскому А.А.)

Среди разнообразных реакций высших растений на биотический стресс особое место занимает индукция биосинтеза эффекторных молекул полипептидной природы – защитных пептидов (ЗП) и белков. К наиболее изученным ЗП относятся некоторые антимикробные пептиды (синтезируются растениями при поражении патогенами) и ингибиторы протеаз (в случае атаки насекомых).

Объединенные усилия ученых из трех институтов позволили охарактеризовать новое семейство ЗП растений, получивших название 4-Cys пептидов. Эти ЗП длиной около 30–50 остатков характеризуются общим цистеиновым мотивом первичной структуры:  $C^1X_3C^2X_nC^3X_3C^4$ ,

где X – любой аминокислотный остаток; четыре инвариантных остатка цистеина образуют две внутримолекулярные дисульфидные связи C<sup>1</sup>-C<sup>4</sup> и C<sup>2</sup>-C<sup>3</sup>. 4-Cys пептиды обнаружены у цветковых растений, по крайней мере, из шести семейств (Caryophyllaceae, Cucurbitaceae, Plantaginaceae, Poaceae, Polygonaceae, Proteaceae) и представляются вездесущими. Среди них присутствуют как ингибиторы сериновых протеаз, селективные в отношении ферментов из пищеварительного тракта насекомых, так и антимикробные пептиды, проявляющие высокую антифунгальную активность против фитопатогенных грибов. В настоящее время исследована пространственная структура трех 4-Cys пептидов (двух ингибиторов трипсина и одного антимикробного пептида). Их укладка представляет собой  $\alpha$ -спиральную шпильку, в которой две  $\alpha$ -спирали располагаются антипараллельно и соединены двумя S-S-мостиками. Изучение структуры генов 4-Cys пептидов указывает на сложную эволюцию этого семейства. Так, у некоторых злаков они кодируются в виде протяженных тандемных повторов, а у многих растений из различных семейств – в составе общих генов с запасными белками. Новое семейство ЗП представляется чрезвычайно интересным объектом структурно-функциональных исследований, а также инструментом инженерии устойчивости растений к стрессу.

## **ИЗМЕНЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ ПЕРЕКИСНОГО ГОМЕОСТАЗА ХЛОРОПЛАСТОВ ГОРОХА В СВЯЗИ С ДЕЙСТВИЕМ ПЕРЕМЕННЫХ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ С РАЗЛИЧНЫМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ**

Васильева Е.А., Половинкина Е.О., Синицына Ю.В., Веселов А.П.

ГОУ ВПО «Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского» (Национальный исследовательский университет), 603950, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23; тел.:(813)4656104, факс:(813)4659758

E-mail: [katelyn@bk.ru](mailto:katelyn@bk.ru) (Васильева Е.А.)

Многочисленными исследованиями последних десятилетий показаны различные биоэффекты магнитных полей, однако механизмы восприятия и реализации воздействий магнитных полей на клеточном и субклеточном уровне изучены недостаточно. Показано, что система перекисного гомеостаза клетки характеризуется высокой чувствительностью, с одной стороны, и набором неспецифических ответных реакций на внешнее воздействие, с другой.

В связи с этим, исследовали изменение перекисного гомеостаза хлоропластов гороха после обработки растений магнитными полями с различными характеристиками. Для генерации импульсного магнитного поля первого типа (ИМП-1) использовалась магнитотерапевтическая установка УМТИ-3Ф «Колибри», создающая вихревое импульсное магнитное поле с амплитудой 3,5 мТл и частотой 100 Гц. Импульсное магнитное поле второго типа (ИМП-2) (пачки из 20 импульсов длительностью 227 мкс с амплитудой 1,5 мТл, следующих с частотой 15 Гц) создавали с помощью генератора фирмы Electro-Biology Inc. После обработки растений магнитными полями в течение 15, 30, 60 или 120 мин оценивали содержание диеновых конъюгатов (ДК) и аскорбиновой кислоты (АК), а также активность супероксиддисмутазы (СОД). Контролем служили необработанные растения.

В результате действия ИМП-1 содержание ДК было минимальным после 60-минутной экспозиции (38,2% от контроля). После 120 мин экспозиции уровень ДК несколько возростал, но так и не достигал контрольного уровня. ИМП-2, в целом, вызывало повышение содержания ДК, достигавшее максимума после 30 мин обработки (120% от контроля). Оба типа полей вызывали повышение активности СОД после 15 мин обработки, которое сменялось ее значительным понижением к 30 мин. После 60 мин экспозиции ИМП-1 возвращало активность СОД к контрольному уровню, а ИМП-2 вновь активировало СОД (130% от контроля). Оба варианта магнитного поля вызывали колебательные изменения уровня АК.

Итак, оба типа ИМП вызывали изменения состояния компонентов перекисного гомеостаза хлоропластов гороха, причем ИМП-2, имеющее более слабые по сравнению с ИМП-1 характеристики, вызывало более выраженную активацию компонентов антиоксидантной защиты одновременно с накоплением продуктов перекисного окисления липидов мембран хлоропластов. ИМП-1 снижало перекисное окисление. В целом, оба типа ИМП вызывали однотипные изменения параметров перекисного гомеостаза, причем они носили немонотонный характер, в связи с чем можно предположить участие системы перекисного гомеостаза в механизмах восприятия воздействия импульсного магнитного поля в растительной клетке.

Работа выполнена при поддержке РФГФ, проект № 10-06-95683и/М

## **АДАПТАЦИЯ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР К ПОЛЕГАНИЮ ЭКЗОГЕННЫМ ФИТОГОРМОНОМ**

Ващенко В.Ф., Нам В.В.

Научно исследовательский институт экологических проблем металлургии;  
ул. Мусоргского д.3, 398000 Липецк, тел/факс: (4742)227458.

E-mail: *vashenko56@mail.ru*

Метод предотвращения полегания зерновых культур с обеспечением формированием типа устойчивого морфогенеза к полеганию всего растения и базальной зоны путём снятия апикального доминирования на главном стебле экзогенным фитогормоном этиленом из обработки посевом этиленпродуцентом Этифорус (ЗАО НИИЭПМ) в комплексе и микроэлементами основан на применении опрыскивания растений в генеративную фазу. Отличается биологической диагностикой адаптацией свойств самого растения с сокращением длины последнего междоузлия сходной с адаптацией естественной растением в сухую и жаркую погоду, что имеет схожие механизмы адаптации с масличными, плодовыми и овощным и ягодными культурами. Прибавка урожайности зерновых культур обеспечивается за счёт большей кустистости, массы 1000 зёрен на побегах кущения, числа зёрен с растения без образования подгона. Применение обосновано в условиях выпадения осадков сезона выше среднеголетних значений на 30-50% в лесостепной, степной и субтропической зонах РФ. В засушливых условиях применение не обосновано достаточностью эндогенного фитогормона в растениях и может привести к тенденции снижения урожайности. Во влажных условиях года посев полностью имеет активацию фотосинтеза, дыхания и пролонгации фотосинтетической активности флагового листа и эректоидности колоса в условиях южнотаёжной – северной части лесостепной зоны. Урожайность в отличие от имеющихся исследований в мире отличается прибавкой урожайности во влажных условиях сезона по отношению к среднеголетним природно-климатическим условиям даже в отсутствии полегания. В условиях засухи отмечено по реакциям ростовым и развития эндогенное регуляция этиленом и другими фитогормонами естественная адаптация растений, то в этих условиях экзогенное опрыскивание растений этиленпродуцентом не требуется. Обработка растений до генеративной фазы не входит в адаптивный потенциал культур. Определён регламент применения на яровом и озимом ячмене, озимой пшенице и тритикале. По экономичности и эффективности положительно отличается от применяемых ретардантов и рекомендуемых регламентах применения.



## **ВЛИЯНИЕ ЗАСОЛЕНИЯ НА СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНИНОВ, АБК И ИУК В ЛИСТЬЯХ *MESEMBRYANTHEMUM CRYSTALLINUM* L.**

Веденичева Н.П.\*, Войтенко Л.В.\*, Мусатенко Л.И.\*, Стеценко Л.А.\*\*,  
Шевякова Н.И.\*\*

\* Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины, ул. Терещенковская, 2,  
01601 Киев, Украина, тел./факс: +38(044)2341064

\*\*Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, ул. Ботаническая, 35,  
127276 Москва, Россия, тел. (499)2318355

E-mail: [vedenicheva@ukr.net](mailto:vedenicheva@ukr.net) (Веденичевой Н.П.), [larstet@mail.ru](mailto:larstet@mail.ru) (Стеценко Л.А.)

Солеустойчивость растений регулируется фитогормонами. Ранее главную роль в адаптации растений к засолению отводили АБК, которая включается в реакции организма на возникающую при этом засуху. Учитывая тесную взаимосвязь фитогормонов, можно предположить, что в адаптации к засолению задействован весь комплекс гормональных веществ, однако данных об изменении баланса фитогормонов под влиянием солей крайне мало, и они часто носят противоречивый характер. Изучали изменения содержания эндогенных гормонов у растения-галофита – хрустальной травки (*Mesembryanthemum crystallinum* L.) – в условиях действия 400 мМ NaCl различной продолжительности. Растения выращивали на питательной среде Джонсона в камере фитотрона. В возрасте 10 недель их подвергали засолению, внося NaCl в питательную среду, пробы листьев отбирали через 6, 24 и 48 ч. Количественное содержание ИУК, АБК и цитокининов определяли методом ВЭЖХ на хроматографе Agilent 1200 LC с диодно-матричным детектором G 1315 B (США). В листьях контрольных растений *M. crystallinum* были обнаружены относительно высокие концентрации зеатина, изопентениладенина и свободной формы ИУК. В то же время уровень зеатинрибозида, изопентениладенина и АБК был крайне низким, на пределе чувствительности метода. Засоление в течение 6 ч приводило к некоторому повышению содержания зеатина и связанной ИУК (примерно в 1,5 раза). Резко, в десятки раз, падал уровень изопентениладенина и свободной ИУК, а зеатинрибозида, изопентениладенина и АБК – так же резко повышался. Дальнейшее выдерживание растений на гиперсолевом растворе вызывало постепенное накопление зеатинрибозида, изопентениладенина, изопентениладенозина и связанной ИУК в тканях листьев. Содержание зеатингликозида было незначительным в листьях контрольных растений, и под воздействием засоления оно уменьшалось в первые сутки, а затем возвращалось на исходный уровень. Следует отметить весьма низкий уровень как свободной,

так и связанной формы АБК в листьях контрольных растений. Под влиянием соли происходила незначительная аккумуляция этого гормона, однако к концу эксперимента его содержание вновь снижалось. В целом, изменения динамики фитогормонов показывают, что они, несомненно, являются составными элементами сигнальной системы *M. crystallinum* при солевом стрессе. Характерной особенностью фитогормонального баланса при этом было низкое абсолютное содержание АБК на фоне более высокого уровня ИУК и цитокининов. Кроме того, различная направленность изменений количества отдельных форм цитокининов указывает на их дифференцированную функциональную роль в обеспечении солеустойчивости растений.

## **ТОЛЕРАНТНОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ СОРТОВ СОИ К ИЗБЫТКУ МЕДИ В ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ**

Великар С.Г.\*, Лисник С.С.\*, Холодова В.П.\*\*, Давид Т.В.\*, Корецкая Ю.Л.\*

\* Институт генетики и физиологии растений АНМ, ул. Падурий, 20, 2002МД, г. Кишинев, тел.: (3732) 770447, факс: (3732) 556180

\*\*Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая, 35, 127276 Москва, тел.:(495)2318334, факс:(495)9778018

E-mail: [dechevas@rambler.ru](mailto:dechevas@rambler.ru) (Великар С.Г.)

Избыточное накопление меди в почве в ряде регионов Молдовы связано с многократными обработками садов и виноградников медьсодержащими фунгицидами. Медь интенсивно накапливается не только в поверхностном слое почвы (20,2-89,5 мг Си на кг почвы), но и в слое 15-30 см (16,1-81,4 мг/кг почвы). Такие концентрации Си для многих видов растений являются токсичными и после раскорчевки многолетних насаждений эти почвы не могут быть использованы для выращивания других культур без предварительной подготовки. В связи с этим поиск растений, толерантных к меди, представляет как теоретический, так и практический интерес. Проведенный нами в рамках совместного молдо-российского проекта скрининг 11 видов растений по основным параметрам, характеризующим их эффективность в качестве фитоэкстракторов меди, выявил относительную толерантность сои, календулы и рапса к избытку этого металла. В предварительных опытах, проведенных в водной культуре, было изучено 6 сортов сои, которые росли без существенных повреждений на среде с содержанием Си до 300 мкМ. Из них наиболее устойчивыми оказались сорта Доринца и Хорбовянка. В данной работе

исследована реакция этих двух сортов на избыточную концентрацию  $Cu$  в почве. Растения выращивали в сосудах емкостью 6 кг почвы с добавлением 300 и 900 мг элемента на кг почвы в виде  $CuSO_4$ . В отличие от водной культуры высокие дозы  $Cu$  в почве не только не угнетали рост растений сои, но на начальных фазах развития отмечен стимулирующий эффект. К концу вегетации существенного снижения биомассы растений и количества стручков на 1 растение в вариантах с  $Cu$  нет, однако масса семян на 1 растение сорта Доринца при  $Cu$  900 ниже, чем в контроле (18,0 и 15,7 г), у Хорбовянки – на уровне контроля. Содержание хлорофилла в листьях сои обоих сортов в вариантах с  $Cu$  незначительно снижается (3-7% по сравнению с контролем, что значительно меньше, чем в водной культуре), заметнее – у сорта Доринца. Отмечена тенденция к увеличению количества каротиноидов в вариантах с  $Cu$ . Внесенная в почву  $Cu$  (300 и 900 мг/кг почвы) индуцировала повышение активности пероксидазы в листьях обоих сортов сои на протяжении всех фаз вегетации. Однако четкой корреляции между количеством элемента в почве и активностью фермента в листьях нет, что косвенно свидетельствует о толерантности обоих сортов сои к избытку этого элемента в почве. Внесенная в почву медь накапливается главным образом в корнях сои. При этом сорт Доринца накапливает во всех органах, особенно в корнях, значительно больше  $Cu$ , чем Хорбовянка. В варианте с  $Cu$  900 увеличивается количество металла и в семенах обоих сортов (на 49 и 54% по сравнению с контролем). Два относительно устойчивых к избытку  $Cu$  в почве сорта сои различаются по уровню аккумуляции металла в органах растений и, соответственно, по толерантности к нему.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 08-04-90111-Мол\_а, 10-04-00799-а и Программы Президиума РАН “Молекулярная и клеточная биология”.

## **СОДЕРЖАНИЕ БЕЛКОВ И ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ АКВАПОРИНОВ ПРИ ОСМОТИЧЕСКОМ СТРЕССЕ У РАСТЕНИЙ КУКУРУЗЫ**

Веселов Д.С.

Институт биологии Уфимского научного центра РАН; пр. Октября 69, 450054 Уфа, тел.: (347)2355362, факс: (347)2356247

E-mail: [veselov@anrb.ru](mailto:veselov@anrb.ru)

Изучали влияние искусственного водного дефицита, который создавали путем добавления нейтрального осмотика полиэтиленгликоля (ПЭГ 4000)

в питательную среду до конечной концентрации 10%, на транспирацию, концентрацию абсцизовой кислоты (АБК), экспрессию генов и содержание белков аквапоринов у растений кукурузы. Растения выращивались в водной культуре. Эксперименты проводили при двух разных температурных режимах. Степень ингибирования транспирации после добавления ПЭГ была больше в случае высокой температуры (примерно 50% и 40% от уровня контроля при 23°C и 28°C соответственно). Анализ уровня транскрипции генов аквапоринов в корнях, растущей и дифференцированной зонах листьев на протяжении 8 часов действия ПЭГ при двух температурных режимах показал, что в наибольшей степени добавление нейтрального осмотика увеличило экспрессию генов в корнях растений. В наименьшей степени произошло возрастание экспрессии отдельных генов аквапоринов в растущей зоне листьев. Возрастание экспрессии было ярче выражено при 23°C, чем при 28°C. Водный дефицит вызывал увеличение концентрации АБК в побегах и корнях растений. Изучение уровня PIP аквапоринов показало, что в случаях, когда наблюдалось увеличение содержания белка, оно было сильнее выражено при 23°C в корнях и растущей зоне листьев и при 28°C в дифференцированной. Анализ данных о влиянии осмотического стресса на растения кукурузы показал, что уровень экспрессии генов аквапоринов в большинстве случаев не отражал количества транслированного продукта. Различия в изменении уровня транскрипта и продукта его трансляции можно объяснить тем, что концентрация белка зависит от многих факторов, кроме уровня экспрессии гена (скорости трансляции, стабильности белка и т.д.). Кроме того, под влиянием активных форм кислорода может происходить деструкция белка. Сравнение ответа растений на воздействие ПЭГ при различных температурных режимах показало, что на фоне накопления аквапоринов транспирация снижалась в меньшей степени при более низкой температуре. Это дает основание предполагать, что повышение активности аквапоринов поддерживает транспирацию у стрессированных растений. Поскольку по данным литературы АБК может влиять на уровень экспрессии некоторых аквапоринов, возрастание концентрации этого гормона к моменту времени, когда в наибольшей степени было выражено повышение уровня экспрессии генов аквапоринов, может быть связано с влиянием абсцизовой кислоты на экспрессию генов водных каналов. Таким образом, уровень содержания аквапоринов и экспрессии их генов в корнях, по все видимости, является важным фактором, способствующим поддержанию транспирационного потока в растениях кукурузы при осмотическом стрессе. Причем уровень аквапоринов может увеличиваться, оставаться неизменным или даже снижаться у растений под влиянием дефицита воды в зависимости от интенсивности стресса.

## НАКОПЛЕНИЕ АБК И УСТОЙЧИВОСТЬ РОСТОВЫХ ПРОЦЕССОВ НА ФОНЕ ЗАСОЛЕНИЯ У РАЗНЫХ СОРТОВ ЯЧМЕНЯ

Веселов Д.С.\* , Шарипова Г.В.\* , Фрике В.\*\*

\* Учреждение Российской Академии наук, Институт биологии; Уфа, пр. Октября, 69, 450054, тел. +73472355362, факс: +73472356247

\*\* University College Dublin; Belfield, Dublin 4, Ireland, phone: 00353(0)17162019, fax: 00353(0)17161153

E-mail: [veselov@anrb.ru](mailto:veselov@anrb.ru) (Веселову Д.С.)

Изучали влияние 100 мМ хлорида натрия на рост, накопление биомассы, содержание ионов натрия, абсцизовой кислоты, соотношение массы побег/корень у растений четырех сортов ячменя (*Hordeum vulgare*): Гольф, Прерия, Михайловский и Красноярский-80. Измерение длины побега и корня, массы растущего 3 листа и общей биомассы растений показало, что засоление подавляло как рост листа в длину, так и накопление его биомассы, а также биомассы растения в целом. У растений сорта Михайловский и Красноярский-80 скорость роста снижалась в большей степени, чем у сортов Гольф и Прерия. Наблюдалось более сильное снижение скорости накопления биомассы корней у растений сортов Михайловский и Красноярский-80 по сравнению с растениями сортов Прерией и Гольфом, что проявлялось в резком падении соотношения массы побега и корня у первой пары сортов и стабильности этого показателя у второй пары. Поддержание роста корней – адаптивная реакция на дефицит воды, которая оптимизирует способность корней поглощать воду, и она была лучше выражена у растений сортов Гольф и Прерия. Экспозиция растений в течение 6 дней на растворе соли приводила к накоплению ионов натрия во всех органах растений. Концентрация ионов на засолении была максимальной в сформированных листьях, ниже – в корнях и самой низкой – в растущем третьем листе. Исключение составляли растения сорта Михайловский, у которого в корнях и в 3-ем листе уровень накопления ионов натрия был одинаковым. В растущем 3-ем листе больше ионов натрия накапливалось у растений сорта Михайловский и Красноярский-80, по сравнению с сортами Гольф и Прерия. Самой низкой концентрация ионов была в растущем 3-ем листе растений сорта Прерия, самой высокой – в 3-ем листе растений сорта Красноярский-80. На засолении содержание АБК резко (в 10 раз по сравнению с контролем) возрастало в корнях растений всех изученных сортов. В сформированном втором листе засоление приводило к повышению уровня АБК, и этот процесс в большей степени был выражен у растений сортов Прерия и Гольф, чем у сортов Михайловский и

Красноярский-80. Таким образом, более высокая устойчивость ростовых процессов к засолению у Прерии и Гольф коррелировала с большей степенью накопления АБК в зрелом листе.

## **СОРТОСПЕЦИФИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ РАСТЕНИЙ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ ИЗБЫТКА ЦИНКА**

Виноградова А.А., Ионова Н.Э.

Казанский (Приволжский) федеральный университет; ул. Кремлевская, 18, 420008 Казань, тел.:(843)2926977, факс:(843)2924448

E-mail: [s0lnywk0@yandex.ru](mailto:s0lnywk0@yandex.ru) (Виноградовой А.А.)

В связи с возрастающим загрязнением окружающей среды все более актуальным становится изучение механизмов адаптации растений к тяжелым металлам, которые при повышенных концентрациях оказывают токсическое действие на самые разнообразные физиологические процессы. Наряду с этим необходимы исследования специфики ответных реакций разных сортов пшеницы при действии тяжелых металлов.

Целью данной работы являлось установление повреждающего действия цинка разных концентраций на растения пшеницы, а также выяснение сортоспецифических различий ряда морфофизиологических характеристик пшеницы при действии избытка цинка.

В качестве объектов исследований были выбраны растения трех сортов яровой мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. разного эколого-географического происхождения и отличающихся по уровню тепло- и засухоустойчивости: Омская 33 (Сибирь, высокозасухоустойчивый), Тризо (Швеция, среднезасухоустойчивый), Закамская (Татарстан, низкозасухоустойчивый). Растения выращивали в течение 7 суток на дистиллированной воде (контроль) и на растворах  $ZnSO_4$  шести возрастающих концентраций – 0,05; 0,25; 0,45; 0,65; 0,85; 1мМ (опыт).

Рост растения является интегральной характеристикой, отражающей степень адаптации растения к изменениям условий окружающей среды. По результатам наших опытов выявлено уменьшение массы, а также длины листьев и корней яровой пшеницы при действии нарастающих концентраций экзогенного цинка. Показана большая чувствительность корней к воздействию тяжелого металла, чем листьев. При этом ингибирующее действие цинка на линейный рост и накопление массы корней проявилось с концентраций 0,07 мМ, и 0,25 мМ – у листьев. Анализ изменения линейного роста листьев изучаемых сортов пшеницы позволил

выявить концентрацию экзогенного цинка, которая снижала данный показатель на 50% по сравнению с контролем и составила 500 мкМ.

При действии нарастающих концентраций цинка выявлено увеличение проницаемости клеточных мембран изучаемых генотипов пшеницы и их относительная стабильность по отношению к стрессовому фактору. Выход электролитов из тканей листьев увеличивался в 2,5 раза при действии самой высокой концентрации экзогенного цинка (1 мМ), наряду с этим величина данного показателя составила 17,19% от полного выхода.

Установлены сортовые различия в содержании воды в листьях, прямо коррелирующие с водоудерживающей способностью генотипа. Под влиянием цинка (500 мкМ) наибольшее снижение уровня оводненности листьев было у растений сорта Тризо, характеризующихся наименьшей водоудерживающей способностью, сорта Омская 33 и Закамская имели соответственно высокие и средние значения данных показателей.

## **РАЗРАБОТКА МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ ДЛЯ ЭКСПРЕСС-ДИАГНОСТИКИ СОЛЕУСТОЙЧИВЫХ ГЕНОТИПОВ ЛЮЦЕРНЫ ПОСЕВНОЙ (*Medicago sp*)**

Вишневецкая М.С., Дзюбенко Е.А., Дзюбенко Н.И., Павлов А.В.,  
Потокина Е.К.

ГНУ ВИР Россельхозакадемии, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42-44,  
190000, факс (812) 570-47-70

E-mail: [vishnevskayams@mail.ru](mailto:vishnevskayams@mail.ru)

Механизмы генетического контроля солеустойчивости наиболее изучены у модельных бобовых с расшифрованным геномом *Medicago truncatula* и *Lotus japonicus*. Сходная организация (синтения) геномов бобовых позволяет использовать знания, полученные для модельных видов, для идентификации генов солеустойчивости у экономически значимых видов бобовых растений.

Цель нашего исследования заключается в разработке молекулярных маркеров для аллелей генов, контролирующих устойчивость к засолению у люцерны посевной (*Medicago sativa*) – ведущей кормовой и мелиоративной культуры на основе синтении геномов бобовых растений. Использование таких маркеров в селекционной практике позволит ускорить процесс отечественной селекции высокопродуктивных солеустойчивых сортов бобовых. Для модельного объекта *Medicago truncatula* недавно опубликована нуклеотидная

последовательность гена *Srlk*, играющего ключевую роль на первых двух этапах цепи реакций растения на абиотический стресс на клеточном уровне (Lorenzo et al., 2009). Нами была заложена серия опытов, позволяющих оценить существует ли связь между полиморфизмом нуклеотидной последовательности гена *Srlk* и чувствительностью к засолению у различных генотипов люцерны посевной. В условиях микровегетационного опыта на искусственных средах был проведен скрининг репрезентативной выборки генотипов с контрастными показателями солеустойчивости. Для последовательности гена *Srlk*, описанного для модельного вида *M. truncatula*, были сконструированы гено-специфичные праймеры, проверена их эффективность в полимеразно-цепной реакции с геномной ДНК других видов *Medicago* из коллекции ВИР, различающихся по устойчивости к солевому стрессу. Амплифицированные фрагменты гена *Srlk* были подвергнуты рестрикционному анализу с помощью набора эндонуклеаз, что позволило впервые выявить и описать внутривидовой полиморфизм нуклеотидной последовательностей *Srlk* у *M. sativa*, ранее не изучавшийся. Сравнение выявленного полиморфизма нуклеотидной последовательности гена *Srlk* у различных генотипов *M. sativa* с их показателями солеустойчивости, позволит в дальнейшем разработать CAPS (Cleavage Amplified Polymorphic Segments) маркеры, позволяющие различать аллельные варианты гена *Srlk* у солеустойчивых и солечувствительных генотипов люцерны посевной, не прибегая к дорогостоящей процедуре секвенирования.

## **ВЛИЯНИЕ ТЕМНОВОГО СТРЕССА НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ ЗЕЛЕННОЙ ВОДОРΟΣЛИ *Trebouxia*, ФИКОБИОНТА ЛИШАЙНИКА *Nypogymnia physodes***

Власова Т.А., Гордонова И.К.

Московский Государственный Университет им. М. В. Ломоносова,  
Биологический ф-т, каф. физиологии растений, Ленинские горы, 119992 Москва,  
тел.: (495)9392118, факс : (495)9394309

E-mail: tat\_vla@list.ru

Многообразие типов взаимоотношений симбионтов лишайников велико и еще недостаточно изучено. Характер взаимоотношений фикобионта и микобионта может существенно изменяться у одного и того же вида под влиянием разных факторов. Для уточнения пределов лабильности функций симбионтов представляется целесообразным изучение их метаболизма в изолированном состоянии. О характере метаболизма клетки, как известно, во многом можно судить по ее ультраструктуре. Целью настоящей работы являлось



изучение влияния продолжительного затемнения на ультраструктуру зеленой одноклеточной водоросли *Trebouxia*, фикобионта эпифитного листоватого лишайника *Nurogymnia physodes*. Водоросль *Trebouxia* выделяли из талломов лишайника *N. physodes*, культивировали на минеральных и органических средах на свету или в темноте и исследовали методом трансмиссионной электронной микроскопии. Изучение выявило значительную вариабельность клеточной ультраструктуры водоросли в зависимости от условий выращивания. В фотоавтотрофных условиях, при освещении, ультраструктура водоросли была весьма сходной с таковой у фикобионта в талломе лишайника. Однако при выращивании в темноте, в гетеротрофных условиях, клетки водоросли приобретали иную ультраструктуру. Клеточная стенка водоросли становилась более тонкой. Цитоплазма была более разреженной, с меньшим количеством рибосом, значительно уменьшалось количество липидных капель в цитоплазме. Митохондрии не изменялись существенно в размерах, но имели меньшее количество крист. Особенно значительные дегенеративные изменения были отмечены в хлоропласте водоросли, форма которого становилась более угловатой, он становился сильно вакуолизированным, количество тилакоидов в нем уменьшалось, а расстояние между ними увеличивалось. Обнаруженные изменения указывают на общее снижение уровня метаболизма фикобионта в гетеротрофных условиях. Сопоставление с результатами предыдущих опытов по выращиванию фикобионта в различных условиях позволяют заключить, что пластичность ультраструктуры фикобионта указывает на его метаболическую подвижность, что способствует выживанию всего организма в меняющихся условиях внешней среды.

## **МЕХАНИЗМ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ВАРИАБЕЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА**

Воденев В.А., Акинчич Е.К., Абрамова Н.Н., Орлова О.В., Мишина Е.Н., Сухов В.С.

Нижегородский государственный университет им. Н.И.Лобачевского; пр. Гагарина 23, 603950 г.Нижний Новгород, тел.: 8(831)4654390, факс: 8(831)4659758

E-mail: [v.vodeneev@mail.ru](mailto:v.vodeneev@mail.ru) (Воденев В.А.)

Вариабельный потенциал (ВП) – электрическая реакции высших растений, возникающая при повреждающих воздействиях – способен к распространению из зоны локального раздражения в связи с чем рассматривается в качестве быстрого стрессового сигнала. ВП представляет собой переходную деполяризацию (волну деполяризации), которая может быть осложнена возникновением импульсов. В настоящее время существует три гипотезы

механизма распространения ВП: электрическая, гидравлическая и химическая. Целью работы явилось изучение механизмов распространения ВП.

Объектом исследования служили 15-20 дневные проростки пшеницы, выращенные гидропонным способом в климатической камере. С целью проверки гидравлической гипотезы распространения ВП нами была изучена динамика индуцированной повреждением деформации листа пшеницы (на расстоянии от зоны раздражения), которая свидетельствует о распространении по тканям растения гидравлического сигнала. Для оценки указанных изменений был использован метод оптической когерентной микроскопии (ОКМ). С помощью ОКМ была зарегистрирована вызванная ожогом быстрая деформация листа на расстоянии от зоны повреждения. Было обнаружено несоответствие в скоростях распространения электрического и гидравлического сигналов. Несоответствие в скоростях распространения может быть объяснено с привлечением химической гипотезы распространения ВП. Зависимость временной задержки между раздражением и началом электрической реакции хорошо описывается теоретически с помощью диффузионного уравнения в случае одномерной диффузии. Для проверки химической гипотезы распространения ВП определяли скорость распространения радиоактивной метки по растению от места нанесения раздражения. У растений перед экспериментом были подрезаны кончики листа. В качестве радиоактивной метки использовался  $C^{14}$  в составе сахарозы. Обнаружено, что радиоактивная метка способна распространяться по растению со скоростью, сопоставимой со скоростью распространения ВП. Полученные результаты указывают на возможность распространения ВП в соответствии с химической гипотезой.

## **МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ СИГНАЛЬНАЯ СИСТЕМА В КЛЕТКАХ РАСТЕНИЙ ПРИ ТЕМПЕРАТУРНЫХ СТРЕССАХ**

Войников В.К.

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН;  
ул. Лермонтова 132, 664033 Иркутск, тел.: (3952)426721, факс(3952)510754  
E-mail: [VVK@sifbr.irk.ru](mailto:VVK@sifbr.irk.ru)

Одной из центральных проблем современной фитобиологии является исследование механизмов генетической детерминации устойчивости растений к неблагоприятным факторам внешней среды, среди которых особая роль отводится температуре. Действительно, изменение внешних условий, в том числе действие стрессовых температурных факторов, вызывает значительные изменения в метаболизме растительных клеток. При этом

реализуется программа избирательной экспрессии генов и осуществляются механизмы генетической детерминации устойчивости растений к стрессам. Осуществляется такая программа в системе целостной клетки и включает в себя множество этапов: рецепцию сигнала о действии стрессового фактора, трансдукцию сигнала в клетку и в геном, изменение экспрессии ряда генов, синтез белков (стрессовых белков) со специфическими функциями, функционирование этих белков, изменение метаболизма клетки. Протекают эти этапы согласованно, т.е. существует внутриклеточная интеграция, направленная на формирование устойчивости клетки к стрессу.

При температурных стрессах в клетках растений функционирует митохондриальный сигналинг, который включает в себя взаимодействие информационной и энергетической систем клетки. Показано, что флуктуации температуры вызывают изменения в энергетической активности митохондрий растений. Эти изменения связаны с перестройкой в составе липидов митохондриальных мембран, что вероятно, является сигналом о начале действия температурного стресса. Происходит изменение редокс-состояния митохондриальных мембран и формируется сигнал о стрессе. После трансдукции сигнала в ядро изменяется экспрессия стрессовых генов и происходит синтез стрессовых белков, которые попадают в различные компартменты клетки, изменяя ее метаболизм и устойчивость к стрессу.

Таким образом, при стрессах в клетках растений реализуется программа избирательной экспрессии генов, в регуляции которой непосредственное участие принимают митохондрии. Изменение их энергетического состояния определяет редокс-состояние митохондриальной мембраны и регулирует экспрессию ядерных генов. Следовательно ядерно-митохондриальная интеграция является важным компонентом в восприятии сигнала о воздействии на клетку стрессового фактора и в реализации механизмов генетической детерминации устойчивости растений к стрессовым нагрузкам.

## **РЕАКЦИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК НА ДЕЙСТВИЕ ФУРОСТАНОЛОВЫХ ГЛИКОЗИДОВ**

Волкова Л.А., Бургутин А.Б., Носов А.М.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая, 35,  
127276 Москва, тел.:(499)2318386, факс (495)9778018  
E-mail: [la-volkova@yandex.ru](mailto:la-volkova@yandex.ru) (Волковой Л.А.)

В последнее время разрабатываются технологии использования индукторов нового поколения (элиситоров), действие которых направлено

на индуцирование естественной устойчивости растительных организмов. К природным веществам, стимулирующим адаптивные механизмы у растений, можно отнести фураностаноловые гликозиды (ФГ), выделенные из культуры клеток *Dioscorea deltoidea* Wall, поскольку, ранее нами было показано проявление их защитного действия в малых дозах (0,45-4,5 мкМ) на растениях и культуре клеток в условиях биотического и абиотического стресса. Характерной особенностью ФГ при действии на растительные клетки, отмеченной нами, является значительное повышение активности пероксидаз (аскорбат- и гваяколзависимой), а также снижение уровня перекисного окисления липидов (ПОЛ). Известна полифункциональность пероксидаз, а также их роль в процессах адаптации растительного организма к различным факторам среды. Различные генотипы картофеля по разному реагировали на действие ФГ: дикий вид, *Solanum bulbokastanum*, повышал активность пероксидазы только на 13%; растения культурных сортов «Ранняя Роза» и «Дезире» увеличивали активность на 36 и 40%, соответственно; сорт «Невский» и соматический гибрид (*S. t.* + *S. chacoense*) занимали промежуточное значение (16-19%). Различия в реакциях на действие ФГ, вероятно, заключаются в структурно-функциональных особенностях генотипов. При действии ФГ в концентрации 0,45 мкМ на каллусную культуру картофеля сорта «Дезире» наблюдали повышение активности суммарной фракции пероксидаз на 90%; при этом активность растворимой внутриклеточной пероксидазы увеличивалась в меньшей степени (до 40%), а максимальное увеличение активности пероксидазы регистрировалось для ионносвязанной (более чем в 2 раза) и мембранносвязанной (в 3 раза). Другим критерием действия ФГ является снижение уровня ПОЛ. В каллусных клетках картофеля сорта «Дезире» через 1 час и 24 часа после кратковременной обработки ФГ (0,45 мкМ; 5 минут) уровень ПОЛ был ниже исходного на 27%, затем его уровень возрос до контрольного значения. У растений картофеля того же сорта, в отличие от культуры клеток, изменение уровня ПОЛ после действия ФГ наблюдалось в течение большего времени и на большую величину. Существенное его снижение было на 3 суток у листьев (60%) и на 1-е сутки у корней (50%), затем интенсивность окислительных процессов постепенно усиливалась до контрольного уровня, при этом активность СОД и каталазы оставались без изменения. Таким образом, повышение активности ионно- и мембранносвязанной пероксидазы при воздействии ФГ, наряду с другими механизмами защиты, обеспечивает способность клеток противостоять действию стрессовых факторов, а снижение уровня ПОЛ может свидетельствовать о включении репарационных ферментных систем, утилизирующих продукты липопероксидации.

## **ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ ГАЗООБМЕН CO<sub>2</sub> и H<sub>2</sub>O ДРЕВЕСНЫХ И ТРАВЯНИСТЫХ РАСТЕНИЙ В МОДЕЛИ ИНТАКТНОГО И ОТДЕЛЁННОГО ОТ ПОБЕГА ЛИСТА**

Воронин П.Ю.<sup>1</sup>, Федосеева Г.П.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Учреждение Российской академии наук Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, ул. Ботаническая, 35, 127276, Москва, тел.:(499)2318363, факс:(495)9778018

<sup>2</sup> Ботанический сад Уральского государственного университета им. А.М. Горького, пр. Ленина, 51, 620000, Екатеринбург, тел.:(343)2616692, факс:(343)3507401

E-mail: *pavel@ippras.ru* (Воронин П.Ю.), *halinaphedoseeva@mail.ru*

Одновременное измерение фотосинтеза и транспирации интактных листьев до сих пор представляет значительную методическую трудность. Транспирацию обычно определяют весовым способом на отделенных от побега листьях. Поэтому сравнение газообмена интактного и отделенного от побега листа является актуальной методической задачей. Для её решения, на представительной выборке из 25 видов растений коллекции Ботанического сада УрГУ, в период вегетации исследовали временной ход фотосинтетического газообмена CO<sub>2</sub> и H<sub>2</sub>O интактного листа и того же листа непосредственно после его отделения от побега. Фотосинтез и транспирацию интактного листа в листовой камере-прищепке (освещенность ФАР 2000 мкЕ/с, температура 25–27°C, относительная влажность 60–70%) определяли с помощью высокоточной ИК-газометрической системы для измерения фотосинтеза GFS-3000 (Walz, Германия). После 10 минут адаптации листа к условиям листовой камеры начинали регистрацию показателей газообмена. Через 6–7 минут измерений стационарного фотосинтетического газообмена лист отделяли от побега, и, не извлекая лист из листовой камеры, продолжали регистрацию фотосинтеза и транспирации в течение последующих 30 минут. Кондиционирование микроклиматических условий в камере в течение всего периода проведения измерений как до, так и после отделения листа от побега позволяло количественно оценивать значимость и последствие собственно отделения листа (раневого эффекта и сопровождающего его водного стресса) на фотосинтетический CO<sub>2</sub> газообмен и транспирацию. Наблюдали наиболее сильное проявление эффекта отделения листа у травянистых растений с высокой интенсивностью фотосинтеза и транспирации. В этом случае сразу после отделения листа в течение 5-10 минут отмечали заметное увеличение транспирации (10-20%) и фотосинтеза

(5-10%), которые в течение последующих 10-20 минут снижались ниже стационарного уровня газообмена неотделенного листа. В отношении листьев с умеренным и слабым фотосинтетическим газообменом (группа древесных растений) эффекта его увеличения после отделения листа не наблюдали. Также, для этой группы последующее снижение газообмена в течение 30 минут после отделения листа было мало значимым. Таким образом, последствие отделения листа на газообмен было наиболее выраженным для листьев растений с интенсивным типом фотосинтеза.

## **ПОВЫШЕНИЕ ЗИМОСТОЙКОСТИ ОЗИМЫХ С ПРИМЕНЕНИЕМ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА NANO-Stim и NANO-Gro**

Воронкова Т.В.<sup>1</sup>, Енина О.Л.<sup>1</sup>, Курилов Д.В.<sup>2</sup>, Кириченко Е.Б.<sup>1</sup>, Артамонов В.Д.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН, Москва, Ботаническая ул., 4.

<sup>2</sup> Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН

E-mail: [evkir@list.ru](mailto:evkir@list.ru) (Кириченко Е.Б.); [kur\\_dv@mail.ru](mailto:kur_dv@mail.ru) (Курилов Д.В.)

Целью настоящего исследования была оценка действия регуляторов роста NANO-Stim и NANO-Gro при предпосевной обработке зерновок на динамику показателей осеннего закаливания и зимостойкость озимого пшенично-элимусного гибрида ПЭГ 149(семена получены из НЭХ «Снегири») в полевых условиях Московской области. Опыт заложен на участке лаборатории физиологии и биохимии растений в г. Москва. Зерновки опытных вариантов перед посевом выдерживали в растворах регуляторов роста в течение 24 ч, а контрольного варианта выдерживали в дистиллированной воде аналогичный по продолжительности период времени. Полевую всхожесть определяли через 2 недели после посева путем подсчета проростков. Ростовые процессы оценивали морфометрическим способом. Количественное определение содержания хлорофиллов а и b в листьях проводили по методу Lichtenthaler and Wellburn (3). Содержание моносахаров и водорастворимых полисахаридов определяли фотометрически с пикриновой кислотой (4). Все указанные определения были выполнены в трёх биологических и трёх аналитических повторностях. В данном эксперименте в процессе весенней вегетации регулятор роста NANO-Stim в большей мере, чем NANO-Gro стимулировал синтез и накопление свободных сахаров в узлах кущения и хлорофиллов в листьях. Результаты биометрических исследований показали, что наностимуляторы роста

значительно повлияли на формирование габитуса растений ПЭГ в период осеннего закаливания. Так, у контрольных растений биомасса узлов кущения и листьев была примерно одинаковой и составила 270 и 260 мг соответственно. Во всех опытных вариантах биомасса листьев достоверно превышала биомассу узла кущения, что свидетельствует о ростостимулирующем влиянии препаратов Nano-gro и NANO-Stim. При этом более выраженным было действие препарата Наностим – биомасса листьев по сравнению с контролем возросла на 40%. Масса узлов кущения ПЭГ в вариантах обработки Nano-gro и Наностим также достоверно превышала массу узлов кущения в контроле – на 10 и 25% соответственно. После прохождения зимовки в пуле свободных сахаров преобладали моносахара, а биомасса листьев и узлов кущения растений ПЭГ снизилась во всех вариантах опыта на 30-50%, однако превышала контроль в вариантах обработки Nano-gro и Наностим. Подсчет количества выживших растений ПЭГ в апреле показал, что во всех вариантах опыта зимостойкость была выше, чем в контроле – более чем на 20%. В данном эксперименте было показано, что испытываемые регуляторы повышают свойства холодостойкости и зимостойкости растений озимой пшеницы в осенне-зимний-весенний период. Благодаря этому опытные растения выходят из зимовки более жизнеспособными и при возобновлении вегетации ранней весной проявляют более высокую активность роста вегетативных органов.

## **ГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ СООТНОШЕНИЯ МАССЫ ПОБЕГА И КОРНЯ ПРИ ТЕПЛОМ ШОКЕ**

Высоцкая Л.Б., Иванов И.И., Кудоярова Г.Р.

Институт биологии, УНЦ РАН, Уфа, пр. Октября, 69, 450054, тел. +73472355362, fax: +73472356247

E-mail: [vysoetskaya@anrb.ru](mailto:vysoetskaya@anrb.ru)

Изменение соотношения массы побега и корня - важная стрессовая реакция растений, а перераспределение биомассы в пользу корней является следствием накопления АБК и снижения содержания цитокининов. Такая точка зрения обоснована тем, что АБК тормозит рост побега в большей степени, чем корней, а цитокинины нужны для роста побега, но ингибируют этот процесс в корнях. В нашей работе тепловой шок (ТШ) подавлял рост корней в меньшей степени, чем

побега, в результате чего соотношение массы побега и корня у растений табака изменялось в пользу корней. Также происходило накопление АБК и снижение содержания ЦК в побегах, что могло способствовать торможению их роста. Неожиданным оказалось накопление цитокининов и отсутствие изменений содержания АБК в корнях опытных растений. Накоплением ЦК можно было объяснить торможение роста корней, но не перераспределение биомассы в их пользу. Для того, чтобы прояснить регуляторную роль ЦК мы изучили влияние локального (только на корни) и тотального ТШ на рост и содержание гормонов у *ipt*-трансгенных растений табака, у которых ТШ индуцировал синтез цитокининов. Тотальный прогрев приводил к резкому и стабильному накоплению ЦК в побегах трансгенных растений и менее выраженному - в корнях, а локальный прогрев корней, напротив, вызывал накопление ЦК в корнях, которое в побегах было небольшим и непродолжительным. Содержание АБК возрастало в побегах, но не в корнях, как при тотальном, так и локальном прогреве. При этом тотальный ТШ стимулировал рост побега и подавлял рост корней, в результате чего соотношение массы побега и корня резко изменялось в пользу побега. При локальном же ТШ не было подавления роста корней, а происходившее при этом небольшое ингибирование роста побега позволяло констатировать относительную активацию роста корней. У трансгенных растений при тотальном ТШ содержание цитокининов в побегах возрастало в большей степени, чем АБК, чем можно было объяснить активацию роста побега. При локальном же ТШ накопление ЦК в побегах было менее значительным и, очевидно, не могло противостоять ростингибирующему действию АБК. В корнях ростингибирующее действие проявлялось не сильно ( $r = -0,6$ ) из-за отсутствия ингибирования их роста у трансгенных растений на фоне накопления цитокининов в корнях при локальном ТШ. Коэффициент корреляции между соотношениями содержания ЦК/АБК в корнях и массы побег/корень был близок к 0, в то время как между соотношениями содержания ЦК/АБК в побегах и массы побег/корень прослеживалась сильная связь ( $r = 0,93$ ). Обсуждается роль содержания в побегах гормонов, стимулирующих и ингибирующих рост, в регуляции акцепторной силы зон роста побега и их способности конкурировать с корнем за ассимиляты.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 09-04-00942\_a).



## **О ВОЗМОЖНОЙ РОЛИ РЕГУЛЯТОРНЫХ БЕЛКОВ 14-3-3 В МЕХАНИЗМЕ ПЕРЕДАЧИ СТРЕССОРНОГО СИГНАЛА ПО АБК-ЗАВИСИМОМУ ПУТИ В РАСТЕНИЯХ *Thellungiella salsuginea***

Высоцкий Д.А.\*, Souer E.\*\*\*, Бабаков А.В.\*, de Boer А.Н.\*\*

\* ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии РАСХН, 127550, Москва, ул. Тимирязевская, д.42; тел: (495)976-65-4

\*\* Vrije Universiteit, FALW, Dept. Structural Biology, De Boelelaan 1085, Amsterdam, 1081 HV, The Netherlands; tel: +31 20 5987162

E-mail: [den\\_vis@mail.ru](mailto:den_vis@mail.ru)

Целью нашей работы являлось изучение молекулярных аспектов механизма передачи стрессорного сигнала по АБК – зависимому пути с участием факторов транскрипции ABF. В качестве объекта исследований использовали новое модельное растение *Thellungiella salsuginea*, близкородственное *Arabidopsis*, но проявляющее бóльшую устойчивость к таким абиотическим стрессам, как засоление почвы и воздействие пониженных температур. Используя метод RACE-PCR, нами были идентифицированы четыре гена, кодирующие ABF. Анализ экспрессии ABF методом ПЦР в реальном времени выявил устойчивую их индукцию в *Thellungiella* в ответ на стрессовые воздействия. Интересно, что в отличие от *Arabidopsis*, ABF экспрессируются в *Thellungiella* на более высоком уровне даже в нормальных условиях выращивания. Это дает основание говорить о некоторой преадаптации растений *Thellungiella* к стрессу. При анализе аминокислотных последовательностей ABF был обнаружен мотив в их С-концевой области, являющийся классическим для связывания с регуляторными белками 14-3-3. Для проверки возможности взаимодействия ABF с изоформами белков 14-3-3, идентифицированных нами ранее в *Thellungiella*, были созданы 14 генетических конструкций и проведен дрожжевой двугибридный анализ. Шесть из восьми протестированных изоформ 14-3-3 взаимодействовали с ABF, и интенсивность этого взаимодействия оказалась изоформ-специфичной. Замена серина на аланин в потенциальном мотиве, фосфорилирование которого необходимо для связывания с белками 14-3-3, привело к полной потере взаимодействия. Полученные результаты говорят о том, что регуляция активности факторов транскрипции ABF в *Thellungiella* может осуществляться путем фосфорилирования специфичного С-концевого мотива с последующим взаимодействием с ним белков 14-3-3. Данное взаимодействие должно приводить к стабилизации димерной структуры самих факторов транскрипции ABF, что не может не отразиться на

эффективности их работы. Разнообразие же изоформ взаимодействующих белков 14-3-3, а также функционирование их самих в виде димерных структур указывают на потенциальную возможность образования различных белковых комплексов с участием факторов транскрипции ABF, что в свою очередь может приводить к разветвлению сигнального пути на уровне транскрипции.

## **СОЛЕУСТОЙЧИВОСТЬ ПРОРОСТКОВ ОГУРЦА ПРИ ТЕРМООБРАБОТКЕ СЕМЯН**

Гаджиева И.Х., Рамазанова П.Б. , Аликадиева Н.М.

Дагестанский государственный университет, ул. М. Гаджиева 43а, 367000,  
г. Махачкала, тел., (8722) 675915

E-mail: [zemfrik@mail.ru](mailto:zemfrik@mail.ru)

Изучали толерантность проростков огурца с. Пальчики (раннеспелый) и с. Феникс (позднеспелый) полученных из термообработанных (ТО) семян к содержанию в среде солей тяжелых металлов (ТМ)  $\text{CuSO}_4$  и  $\text{ZnSO}_4$  ( $10^{-5}$ - $3 \cdot 10^{-5}$  М, I и II). Семена выдерживали в течении часа в термостате при 41°, 45° и 51°C и высевали в ч. Петри с растворами солей, контроль – вода. Трехдневные проростки переносили в пенициллиновые стаканчики с растворами. Учитывали сроки проклеивания семян, появления у проростков настоящих листьев (НЛ), длину корней и побегов, определяли интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) (Мерзляк и др., 1978) в семядольных и настоящих листьях проростков.

На третьи сутки проросли все семена с. Феникс в вариантах с  $\text{CuSO}_4$ ,  $\text{ZnSO}_4$  и контроле; с. Пальчики – в воде проклюнулось 55%, в растворах  $\text{CuSO}_4$  (I и II) – 20 и 15% и  $\text{ZnSO}_4$  – 40 и 30%.

Формирование НЛ у проростков с. Феникс происходило раньше, чем у с. Пальчики, как в контроле, так и в условиях засоления среды, Так, на 15-е сутки количество проростков с. Феникс с НЛ в контроле достигло 70%, с. Пальчики – 55%. Содержание солей в среде задерживало темпы развития НЛ. В растворе  $\text{ZnSO}_4$  (I) на 15-е сутки формирование 1 НЛ происходило у 60% проростков с. Феникс и 35 % с. Пальчики. Экспонирование в растворах еще больше задерживало формирование 2 НЛ. Так, на 18-е сут. образование 2 НЛ в контроле наблюдалось у 40% проростков с. Пальчики и 60% с. Феникс, в среде с  $\text{ZnSO}_4$  (I) соответственно у 20 и 40%.

ТО семян огурца повышало жизнеспособность проростков при засолении среды. Количество проросших семян с ТО 45°C с. Пальчики составило в (I)  $\text{CuSO}_4$  – 100%, во (II) – 90%. При культивировании в  $10^{-5}$  М  $\text{ZnSO}_4$  количество проростков с. Феникс с 1 НЛ на 15-е сут. составило при ТО семян 41-45 – 51°C соответственно 75-100 – 80%. ТО семян оказывала влияние на рост корней и побегов. Так, в варианте с  $\text{ZnSO}_4$  (I и II) средняя длина наибольшего корня у проростков с. Пальчики из ТО 45°C семян составила 9,07 и 8,36 см; при ТО 51°C – 8,15 и 7,68 см и ТО 41°C – 7,15 и 7,00 см; без ТО – 6,86 и 6,36 см. Средняя длина побегов в этом же варианте засоления и ТО соответственно 8,15 и 7,21 см; 7,09 и 7,00 см; 7,00 и 6,63 см; 6,86 и 6,35 см.

ТО семян снижала интенсивность ПОЛ в семядолях и НЛ проростков при засолении. Так, при ТО 45°C активность ПОЛ в семядолях проростков с. Пальчики экспонируемых в  $10^{-5}$  М  $\text{ZnSO}_4$  была на 13%, в НЛ на 14% ниже, чем в варианте без ТО.

Таким образом, чувствительность к засолению среды солями ТМ сильней проявляется у проростков раннеспелого сорта. Отрицательный эффект  $\text{CuSO}_4$  на ростовые процессы значительно более выражен. ТО семян повышала жизнеспособность проростков огурца в среде с солями ТМ, наиболее оптимальной была t 45°C.

## **ТИРОЗИНОВОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ БЕЛКОВ КОРНЕЙ ГОРОХА (*Pisum sativum* L.) ПРИ ВОЛЬФРАМАТ-ИНДУЦИРОВАННОМ СТРЕССЕ**

Газизова Н.И., Каримова Ф.Г.

Учреждение Российской академии наук Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН; ул. Лобачевского, д. 2/31, 420111, Казань, тел.: (843)2319047

E-mail: [natgazizova@mail.ru](mailto:natgazizova@mail.ru)

Одной из актуальных проблем, возникающих в результате активной антропогенной деятельности, является загрязнение окружающей среды тяжелыми металлами (ТМ). Этой проблеме в настоящее время посвящено много исследований. Однако все еще недостаточно изучены физиолого-биохимические реакции и механизмы токсического действия ряда ТМ на растения. К числу малоисследованных ТМ относится вольфрам, имеющий биологическую значимость для очень ограниченного числа организмов.

Возможность аккумуляции этого ТМ в среде обуславливается его наличием в бытовых отходах, отходах тяжелой, легкой и военной промышленности, а также его содержанием в фосфорных удобрениях. Исследования последних лет выявили, что соединения этого ТМ могут быть токсичными и вызывать неопластическую трансформацию клеток человека.

ТМ, как и другие абиотические стрессоры, запускают в клетках каскады сигнальных реакций. Ключевая реакция сети сигнальных каскадов – фосфорилирование/дефосфорилирование белков. Эта важная посттрансляционная модификация белков участвует в регуляции многих процессов. Известно, что фосфорилирование/дефосфорилирование белков по остаткам аминокислот тирозина критично для клеточной пролиферации и дифференцировки. Увеличение количества фосфотирозиновых белков и уровня их фосфорилированности крайне неблагоприятно для живых организмов.

В данной работе было исследовано влияние вольфрамата натрия (0,1 мМ и 10 мМ) на пролиферативную активность клеток корневой меристемы гороха, рост корней, содержание  $H_2O_2$  в корнях, фосфатазную активность растворимой фракции белков корней и уровень тирозинового фосфорилирования белков.

Установлено, что вольфрамат оказывает влияние на пролиферативную активность клеток корневой меристемы и тормозит рост корней. Уже через 10 минут действия вольфрамата на корни выявлено повышение содержания  $H_2O_2$  в тканях корней и снижение фосфатазной активности. Методом 2-Д электрофореза с последующим иммуноблоттингом с использованием специфических к фосфотирозину антител PY20 (Amersham) установлено увеличение количества фосфорилированных по тирозину белков и уровня их фосфорилированности. Полученные данные свидетельствуют об участии тирозинового фосфорилирования белков корней в ответной реакции растений гороха на вольфрамат-индуцированный стресс и обсуждаются с позиции молекулярных механизмов регуляции активности ключевых ферментов тирозинового фосфорилирования – протеинтирозинфосфатаз.

## **ИЗУЧЕНИЕ ПЕРОКСИДАЗНОЙ АКТИВНОСТИ В АНОМАЛЬНЫХ ПО СТРОЕНИЮ ПРОВОДЯЩИХ ТКАНЯХ СТВОЛА КАРЕЛЬСКОЙ БЕРЕЗЫ**

Галибина Н.А., Софронова И.Н.

Институт леса Карельского научного центра РАН; ул. Пушкинская 11, 185910  
Петрозаводск, тел./факс: (8142)768160

E-mail: [ngalibina@sampo.ru](mailto:ngalibina@sampo.ru) (Галибиной Н.А.)

На деревьях карельской березы с разной степенью проявления узорчатости в структуре древесины в течение вегетационного сезона изучили активности кислых и основных пероксидаз во флоэмной и ксилемной частях камбиальной зоны. Активность ферментов *in vitro* определяли методом электронной спектроскопии на примере окисления гваякола (орто-метоксифенол) и бензидина (4,4'-диаминодифенил).

Карельская береза – форма березы повислой, у которой локальные нарушения деятельности камбия, приводят к формированию структурных аномалий древесины и коры. Изучение физико-химических свойств клеточных стенок ксилемы выявило у узорчатых растений, по сравнению с безузорчатыми, большую степень жесткости оболочек. Упрочнение клеточных стенок происходило за счет высокого количества фенольных соединений, как в составе лигнина, так и в виде поперечных диферуловых мостиков. Ключевая роль в синтезе лигнина принадлежит ферменту пероксидазе. В ходе проведенной работы показано наличие высокой ферментативной активности для пероксидазы в тканях ствола карельской березы с разными типами субстратов, как с метоксифенолом, так и с диаминодифенилом. Для обеих форм березы повислой в тканях флоэмы активность пероксидазы была выше, по сравнению с тканями ксилемы. Пероксидаза – фермент, реагирующий на любое изменение окружающей среды и на любые стрессовые ситуации, индукторами ее могут быть разнообразные физические, химические и биологические факторы. Были получены отрицательные корреляции между активностью пероксидазы и интенсивностью камбиального роста. Так, к июню, когда в стволовой части начинается интенсивный камбиальный рост, активность пероксидазы существенно снижалась, по сравнению, с маем, когда камбий еще не активен. В конце июля продолжительные высокие температуры привели к существенному торможению камбиальной активности. При этом у деревьев карельской березы с узорчатой текстурой древесины, как в ксилеме, так и во флоэме, наблюдалось увеличение пероксидазной активности,

как для кислых, так и для основных форм фермента. У безузорчатых растений активность пероксидазы не изменялась.

Обсуждаются возможные пути участия пероксидазы в процессах аномального морфогенеза древесных растений

## **КЛИМАТИЧЕСКИЙ СТРЕСС И ТАКСОНОГЕНЕЗ**

Гамалей Ю.В.

Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, ул. проф. Попова, 2, 197376 Санкт-Петербург, тел. (812) 234-19-57

E-mail: [ygamalei@mail.ru](mailto:ygamalei@mail.ru)

Прослежены обратные связи эволюции климата и растительности, базирующиеся на балансовых отношениях водо-, газо- и теплообменных процессов на остывающей планете (из расчета 0.5 град/млн. лет). Исследованы факторы, механизмы и результаты климатического адаптогенеза в ходе эволюционного перехода от термофильной флоры к крио- и ксерофильной, различающихся комплексом морфологических признаков и структурно-функциональных параметров. Массовый для большинства филогенетических линий путь связан с переходом от древесных форм к мелким и менее специализированным травяным. Установлено, что ключевыми звеньями этого процесса являются реконструкция клеточных систем растений и рост содержания ДНК в ядерном геноме. Ступенчатое похолодание климата на остывающей планете сопровождается многократным ростом генома. Основным его механизмом, по-видимому, была полиплоидия с последующей возможностью гибридизации. Параллельно происходит поэтапный сброс специализации биоморф: утрата плазмодесм, переход на апопластное распределение ассимилятов. Оба процесса направлены на снижение энтропии в неблагоприятных условиях. Сокращение древесной флоры в олигоцене и миоцене оценивается в 100-150 тысяч видов. Судя по сокращению площади тропических лесов, оно продолжается и в настоящее время. Число пришедших на смену травяных таксонов – не более 30-40 тысяч видов. Баланс видового разнообразия в неогене отрицательный. Общая филогенетическая тенденция от деревьев к травам, по-видимому, так же необратима как общая тенденция температурной динамики климата в направлении похолодания.

## СИСТЕМЫ АНТИОКСИДАТНОЙ ЗАЩИТЫ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ ТЕХНОГЕННОГО СТРЕССА

Гарифзянов А.Р.

Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого;  
пр. Ленина 125, 300026 Тула, тел.: (4872) 352009, факс: 8(48752)65109

E-mail: [Garifzyanov86@yandex.ru](mailto:Garifzyanov86@yandex.ru) (Гарифзянову А.Р.)

Произрастание древесных растений в условиях техногенно загрязненной среды сопряжено с опасностью развития в клетках окислительного стресса, сопровождающегося избыточной генерацией активных форм кислорода (АФК), например,  $H_2O_2$ . В детоксикации АФК принимают участие разнообразные энзиматические (каталаза (КАТ), пероксидаза (ПО) и др.) и неэнзиматические антиоксиданты (аскорбиновая кислота (АК), глутатион (ГЛ) и др.). В рамках проводимого исследования было изучено состояние антиоксидантных систем (АОС) в листьях *Sorbus aucuparia* L, *Populus nigra* L, *Tilia cordata* Miller, *Larix sibirica* Ledeb, *Betula pendula* Roth, произрастающих в условиях санитарно-защитных полос (СЗП) металлургических предприятий г.Тула. Почвы СЗП характеризуются превышением ПДК по содержанию ряда тяжелых металлов: Mn (в 4,7 раза), Ni (в 1,2 раза), Pb (в 1,5 раза), Zn (в 2 раза) и Cd (в 6 раз). Проведенное исследование показало, что в листьях *P. nigra*, *T. cordata* и *B. pendula* под действием поллютантов происходит увеличение количества  $H_2O_2$  в 1,5-2,5 раза по сравнению с контролем. Кроме того, в листьях данных видов повышается интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ), что диагностируется по увеличению содержания малонового диальдегида (МДА) на 35-45%. В листьях *L. sibirica* и *S. aucuparia* количество  $H_2O_2$  и МДА снижается по сравнению с контролем на 40-55% и 30-50% соответственно. Способность видов противостоять последствиям развивающегося под действием поллютантов окислительного стресса коррелирует с уровнем антиоксидантной активности. Проведенное исследование показало, что в листьях *P. nigra*, *T. cordata* и *B. pendula* в условиях промышленного загрязнения происходит снижение количества АК на 25-70%, а в листьях *S. aucuparia* – увеличение на 35%. Уровень ГЛ увеличивается в листьях *B. pendula*, *L. sibirica* и *S. aucuparia* в 1,5-3 раза, но снижается в листьях *P. nigra* в 2,5 раза по сравнению с контролем. Критическим в условиях, способствующих развитию окислительного стресса в клетках, является не только содержание низкомолекулярных метаболитов, проявляющих антиоксидантные свойства, но и активность специфических ферментов-антиоксидантов. При этом для *T. cordata*, *P. nigra* и *B. pendula* выявлено увеличение активности ПО в 5-16, 2-5 и 6 раз

соответственно, а для *S. aucusparia* – снижение активности в 14-23 раза. Для *S. aucusparia* и *B. pendula* характерным было увеличение активности КАТ на 31% и 21-27% соответственно. Таким образом, проведенное исследование показало, что произрастание древесных растений в техногенно загрязненной среде приводит к развитию окислительного стресса, сопровождающегося накоплением  $H_2O_2$ , МДА, и разнонаправленными изменениями содержания и активности компонентов АОС.

## **ВЛИЯНИЕ ДЦКД (*N,N'*-ДИЦИКЛОГЕКСИЛКАРБОДИИМИДА) НА ИОННУЮ ПРОВОДИМОСТЬ ПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ МОРСКОЙ МИКРОВОДОРОСЛИ *Dunaliella maritima***

Генатулина А.Р., Попова Л.Г., Андреев И.М., Балнокин Ю.В.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, ул. Ботаническая 35, 127276, Москва, тел.: (495)9779218  
E-mail: [ailagr@rambler.ru](mailto:ailagr@rambler.ru)

Основным механизмом, обеспечивающим  $Na^+$ -гомеостатирование цитоплазмы у морской зеленой микроводоросли *Dunaliella maritima* является  $Na^+$ -транспортирующая АТФаза плазматической мембраны (ПМ) [Ророва et. al., 2005]. В настоящей работе мы исследовали транспортную активность  $Na^+$ -АТФазы и влияние на нее ингибитора мембранных транспортных систем ДЦКД (*N,N'*-дициклогексилкарбодиимида). Эксперименты проводили на инвертированных везикулах ПМ, выделенных из клеток водоросли. Активность  $Na^+$ -АТФазы регистрировали по АТФ и  $Na^+$ -зависимой генерации электрического потенциала ( $\Delta\psi$ ). Определяли также влияние ДЦКД на  $Na^+$ -зависимую АТФгидролазную активность фракций ПМ. Было найдено, что ДЦКД не влияет на  $Na^+$ -зависимый гидролиз АТФ, катализируемый фракцией ПМ, увеличивает начальную скорость  $Na^+$ -зависимой генерации  $\Delta\psi$  и уменьшает стационарную величину  $\Delta\psi$ , создаваемую на ПМ в присутствии  $Na^+$  и АТФ. Чтобы объяснить наблюдаемые эффекты ДЦКД, исследовали влияние этого агента на  $Na^+$ -диффузионный потенциал и  $K^+$ -диффузионный потенциал. Последние создавали на везикулярных мембранах, внося, соответственно,  $Na^+$  и  $Na^+$ -ионофор ЕТН-157,  $K^+$  и  $K^+$ -ионофор валиномицин. Эти эксперименты показали, что ДЦКД индуцирует ионную проводимость везикулярных мембран, причем эффекты ДЦКД определяются присутствием  $Na^+$  и  $\Delta\psi$  на мембране. Мы предполагаем, что ДЦКД взаимодействует не с  $Na^+$ -АТФазой, а с неизвестным белком ПМ. Чтобы идентифицировать этот белок, мы



использовали флуоресцентный аналог ДЦКД, NCD-4 (*N*-циклогексил-*N'*-[4-(диметиламино)нафтил]карбодиимид). Препараты ПМ были инкубированы с NCD-4, после чего мы осуществляли электрофоретическое разделение белков ПМ. В ПААГ обнаружен единственный белок, связывающийся с NCD-4, массой 16 кДа. Функция этого белка остается пока неясной. Предполагается, что это может быть регуляторный белок, который прямо или косвенно участвует в переносе ионов Na<sup>+</sup> через ПМ.

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований, грант №-10-04-01456-а.

## **РЕАКЦИЯ ДЫХАТЕЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА МИТОХОНДРИЙ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА НА ЗАСУХУ И ПОНИЖЕННУЮ ТЕМПЕРАТУРУ**

Генерозова И.П., Шугаев А.Г.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая 35, 127276 Москва, тел: (499)2318340, факс (495)9778018  
E-mail: [igenerozova@mail.ru](mailto:igenerozova@mail.ru) (Генерозовой И.П.)

Существует мнение, что с возрастом проростки растений теряют устойчивость к стрессовым воздействиям. Наши исследования митохондрий этиолированных эпикотилей 2- и 3-дневных проростков гороха *Pisum sativum* сорт «Флора-2», выращенных при 23°C, выявили более активный дыхательный метаболизм у 3-дневных проростков: выше скорость окисления субстратов в присутствии АДФ (3 состояние) за счет повышенной скорости транспорта электронов на конечном участке электрон-транспортной цепи, выше величина коэффициента дыхательного контроля (ДК). Доля альтернативного CN-резистентного и остаточного дыхания в сумме составляла 10%. У 2-дневных проростков, напротив, при пониженной скорости окисления субстратов в 3 состоянии и величине ДК, была снижена мощность цитохромоксидазы. Доля слабо фосфорилирующего CN-резистентного пути составляла 7%, а нефосфорилирующего остаточного дыхания – 20%. В условиях действия засухи, создаваемой погружением корней проростков в 0.6 М манит на 2 суток, у митохондрий 3-дневных проростков понижались скорости окисления субстратов в 3 состоянии за счет транспорта электронов на конечном участке дыхательной цепи, соответственно снижалась величина ДК, но сохранялась высокая доля цитохромного пути транспорта электронов. У 2-дневных проростков в этих же условиях, при невысокой скорости окисления субстратов и сниженном ДК, возрастала доля альтернативного пути до 15% и доля остаточного

дыхания до 24%. 3-дневные проростки сохраняли способность к росту в условиях стресса, тогда как 2-дневные приостанавливали рост. В условиях реоводнения 3-дневные проростки достигали более высоких показателей дыхательного метаболизма и роста эпикотилей, чем 2-дневные. Если выращивать и подвергать засухе 3-дневные проростки при 18°C, то рост их тормозился, они накапливали пролин в ответ на стресс – способность, утраченная 3-дневными проростками при 22°. Но митохондрии сохранили более высокую эффективность фосфорилирования, чем 2-дневные при засухе, благодаря большей скорости окисления субстратов в присутствии АДФ и соответственно величине ДК, более высокой доле цитохромного дыхания. Хотя возросла доля CN-резистентного дыхания – до 24%, однако оксидазы, ответственные за осуществление остаточного дыхания, были полностью подавлены. Результаты показывают, что вопреки представлениям о потере устойчивости к стрессам с возрастом, 3-дневные проростки более успешно преодолевали засуху, чем 2-дневные. В частности, у них в тканях эпикотиля содержалось больше воды даже при дополнительном воздействии пониженной температурой, что, по-видимому, способствовало перестройкам дыхательного метаболизма в процессе адаптации к стрессовым воздействиям.

## **ПОЛУЧЕНИЕ ГАЗОННЫХ ТРАВ, УСТОЙЧИВЫХ К КОМПЛЕКСНОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ФАКТОРОВ МЕГАПОЛИСОВ**

Гладков Е.А.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая 35, 127276 Москва, тел.: (499)2318334, факс: (495)9778018  
E-mail: [gsc@ippras.ru](mailto:gsc@ippras.ru)

Современный город представляет собой сложную многофункциональную экосистему, в которой доминирует человек, характерной особенностью которой является загрязнение окружающей среды. Растения в городских условиях не могут приспособиться к комплексному воздействию вредных веществ, особенно чувствительны газонные травы. Для многих городских газонов характерно существенное снижение декоративных качеств, невысокий процент всхожести, ингибирование процессов роста и развития, недолговечность. Один из путей решения этой проблемы – получение растений, устойчивых к неблагоприятным условиям мегаполисов. С помощью клеточной селекции получены растения, толерантные к определенному экологическому фактору – засухе, засолению, некоторым

тяжелым металлам. Однако нет данных о получении растений, устойчивых к комплексному воздействию тяжелых металлов. Поэтому целью нашей работы было получение растений, обладающих устойчивостью к нескольким токсикантам. Объектом исследования была газонная трава полевица побегоносная (*Agrostis stolonifera*). Для получения растений устойчивых к комплексному воздействию тяжелых металлов, необходимо было оценить их фитотоксичность для целых растений и каллусных культур. Ингибирующее действие для целых растений и в культуре клеток наблюдалось при концентрации нитрата свинца – 0,05 %, кадмия – 7 мг/л, цинка – 150 мг/л. Исходя из высокой фитотоксичности тяжелых металлов, данная концентрация была выбрана для селекции растений на первом этапе культивирования. Культивирование каллуса проводили в течение 2 пассажей с увеличением концентраций тяжелых металлов – кадмия 10 мг/л, цинка 200 мг/л и нитрата свинца 0,1% на стадии получения и укоренения регенерирующих каллусов. Всего в селективных условиях было получено 58 регенерантов. Большинство регенерантов имели нормальную морфологию и хороший рост, однако часть регенерантов имели более темную окраску листьев и большую толщину. Большинство регенерантов показали повышенную устойчивость к комплексному воздействию металлов. Семена двух регенерантов были проверены. Потомки регенерантов продемонстрировали повышенную устойчивость к комплексному воздействию металлов, а также к высоким концентрациям цинка и кадмия. Повышенная устойчивость сохранялась и в следующем поколении. Следовательно, современные биотехнологические методы можно использовать для получения растений обладающих устойчивостью к комплексному воздействию неблагоприятных экологических факторов мегаполисов.

## **ОЦЕНКА ФИТОТОКСИЧНОСТИ МЕДИ И БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ РАСТЕНИЙ ПОЛЕВИЦЫ ПОБЕГОНОСНОЙ (*Agrostis stolonifera*), ТОЛЕРАНТНЫХ К МЕДИ**

Гладков Е.А., Долгих Ю.И.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая 35,  
127276 Москва, тел.:(499)2318334, факс:(495)9778018  
E-mail: [gsc@ippras.ru](mailto:gsc@ippras.ru)

В почвах больших городов повышена концентрация меди. В почвах Москвы, зарегистрировано содержание ионов меди до 300 мг/кг, однако на некоторых территориях концентрация может достигать 600

мг/кг и более. Целью работы являлась оценка фитотоксичности меди и получение с помощью методов биотехнологии растений полевицы побегоносной, обладающих устойчивостью к меди. Гигиеническим критерием оценки загрязнения почв химическими веществами являются ПДК. ПДК меди составляет 55 мг/кг. Однако, результаты экспериментов, полученных на растениях в почвенных условиях и в чашках Петри, показали, что для большинства исследуемых растений городского озеленения (полевица побегоносная, овсяница красная, брахикома иберисолистная, василек красный, годеция низкорослая) максимально недействующая концентрация составляет 30 мг/кг (данную концентрацию можно рекомендовать в качестве ОДК для городских растений), при которой ингибирование ростовых показателей находилось в пределах 25%. Полевица побегоносная оказалась одной из самых чувствительных среди исследуемых видов к высоким концентрациям меди, например, при концентрации 50 мг/л в водном растворе у нее не образовывались корни. Ингибирующее воздействие меди в культуре клеток для полевицы проявлялось при концентрации 100 мг/л, прирост каллуса составлял 61,5% от контроля, а при концентрации 150 мг/л вес каллуса полевицы был в 2,7 раза меньше, чем в контроле. Регенерационная способность каллусных тканей при концентрации 150 мг/л меди, составляла 20,5%. Концентрация 150 мг/л была выбрана в качестве селективной для отбора устойчивых клеток и растений. Была использована прямая схема селекции, селективный фактор присутствовал в среде на всех этапах отбора, включая укоренение регенерантов. Всего в селективных условиях было получено 56 регенерантов полевицы. Большинство регенерантов полевицы имели нормальную морфологию и хороший рост. Для проверки устойчивости к высоким концентрациям меди десять растений полевицы, а также исходные растения были высажены в почву. Восемь из десяти растений-регенерантов обладали повышенной устойчивостью к меди, два из десяти регенерантов имели чувствительность на уровне исходных растений. Потомки регенерантов обладали повышенной устойчивостью к меди по сравнению с контролем, устойчивость сохранялась и во втором поколении. Таким образом, современные биотехнологические методы можно рекомендовать использовать в городском озеленении для получения растений устойчивых к меди.

## НАКОПЛЕНИЕ ИЗОФОРМ ХИТИНАЗЫ ПРИ КОМБИНИРОВАННОМ ВЛИЯНИИ КАДМИЯ И РАЗНЫХ УСЛОВИЙ АЗОТНОГО ПИТАНИЯ

Головатюк Е.А.\*, Матушикова И.\*\* , Таран Н.Ю.\*

\* Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко,  
ул. Владимирская 64, 01033 Киев, Украина, тел: +380445221427

\*\* Институт генетики растений и биотехнологии Словацкой Академии Наук,  
ул. Академицка 2, 95007 Нитра, Словацкая Республика

E-mail: [golovatyuk.yevgeniya@gmail.com](mailto:golovatyuk.yevgeniya@gmail.com) (Головатюк Е.А.)

Растительные хитиназы относятся к патоген-индуцируемыми белкам, однако существуют данные свидетельствующие о вовлечении этих ферментов в защитные реакции растений вызванные тяжелыми металлами (ТМ). В то же время известно, что условия азотного питания оказывают всестороннее влияние на растительный организм. Поэтому целью данной работы было изучение влияния ионов кадмия на накопление изоформ хитиназы в корнях сои, *Glycine max*, а также возможности регуляции синтеза этих защитных ферментов элементами минерального питания. Ростки сои на питательной среде с дополнительным внесением азота в концентрациях 1,2 и 24 мМ подвергались воздействию кадмия в концентрации 50 мг/л, время экспозиции — 48 ч., контролем служила сбалансированная среда Гельригеля. Определили обратную зависимость влияния возрастающих концентраций азота на рост корней растений. В свою очередь, присутствие ионов кадмия вызывало угнетение роста у всех опытных вариантов, но, в то же время, наблюдались различия в характере роста корней зависимо от комбинированного действия ТМ и азотного режима. Экстракты белков корней сои для дальнейшего определения хитиназной активности были разделены методом электрофореза в ПААГ в денатурирующих и нативных условиях. В белковых экстрактах корней сои всего было идентифицировано, по меньшей мере, 6 изоформ фермента хитиназа, интенсивность фракций которых существенно различалась зависимо от условий опыта, что свидетельствует об активации защитных механизмов. Из 4 идентифицированных в денатурирующих условиях изоформ, на накопление которых влияло присутствие кадмия в среде, 2 были синтезированы *de novo* (~25 и 30 kDa), однако только изоформа массой ~36,5 kDa достоверно изменяла свою активность при комбинированном влиянии кадмия и разных концентраций азота. При разделении кислых и щелочных изоформ хитиназы активность 5 из них существенно зависела от содержания кадмия в среде. Основываясь на полученных результатах, очевидно, что существует некоторое взаимодействие между ионами кадмия

и примененной концентрацией азота при формировании адаптивного ответа сои. По данным электрофоретических спектров фермента хитиназы, определено, что среди идентифицированных изоформ есть такие, которые регулируются разными типами стресса, более того, накопление некоторых стресс-индуцированных изоформ может полностью угнетаться исследуемой комбинацией факторов.

## **ТЕРМАЛЬНАЯ ДИССИПАЦИЯ СВЕТОВОЙ ЭНЕРГИИ В ЛИСТЬЯХ РАСТЕНИЙ И ЕЕ ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ**

Головко Т.К.\*, Захой И.Г.\*, Далькэ И.В.\*, Дымова О.В.\*, Табаленкова Г.Н.\*,  
Розенцвет О.А.\*\*

\* Институт биологии Коми НЦ УрО РАН; ул. Коммунистическая 28, 167982  
Сыктывкар, тел.: (8212)249687, факс: (8212)240163

\*\* Институт экологии Волжского бассейна РАН; ул. Комзина 10, 445003 Тольятти,  
тел./факс: (8482)489504

E-mail: [golovko@ib.komisc.ru](mailto:golovko@ib.komisc.ru); [zakhozhiy@ib.komisc.ru](mailto:zakhozhiy@ib.komisc.ru); [dalke@ib.komisc.ru](mailto:dalke@ib.komisc.ru);  
[dymovao@ib.komisc.ru](mailto:dymovao@ib.komisc.ru); [tabalenkova@ib.komisc.ru](mailto:tabalenkova@ib.komisc.ru); [olgarozen@pochta.ru](mailto:olgarozen@pochta.ru)

Функционирование живых организмов неразрывно связано с потреблением энергии. У растений особую роль играет фотосинтез как процесс глобального преобразования солнечной энергии. Поглощение ФАР и перенос энергии возбуждения к РЦ фотосистем осуществляются пигментами светособирающего комплекса. В РЦ энергия фотовозбужденного хлорофилла преобразуется в химический потенциал. В природных условиях высшие растения испытывают кратковременное и продолжительное действие значительных колебаний освещенности, нередко в сочетании с разными стрессовыми факторами среды, что может приводить к поглощению избыточной энергии и фотоокислительному повреждению фотосинтетического аппарата (ФА). Поэтому способность контролировать соотношение поглощения и использования световой энергии является необходимым условием их выживания. Представлены результаты исследования структуры и функциональной активности листьев *Plantago media* в местообитаниях с разным световым режимом. На открытом участке растения подорожника среднего имели мелкие, толстые листья с низким содержанием пигментов, способные поддерживать более высокую скорость ассимиляции  $\text{CO}_2$  на полном свете. ФА световых растений проявлял устойчивость к избыточной ФАР, в основном, за счет активации

механизмов нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла (NPQ). Этому способствовало усиление дезэпоксидации компонентов виолаксантинового цикла. В листьях световых растений обнаружено повышенное содержание моногалактозилдиацилглицерола – липида, создающего условия для активации виолаксантиндеэпоксидазы и формирования пула зеаксантина, осуществляющего тепловую диссипацию избыточной энергии. Накопление в листьях световых растений гликолипидов, по-видимому, обеспечивает гибкую среду для замены фотоповрежденных белков ФС II, нейтральных липидов – материала для репарации структурных липидов мембран. Листья растений, обитающих в густом травостое, содержали больше пигментов, имели низкий показатель NPQ и не нуждались в поддержании высокого уровня дезэпоксидации пигментов ВКЦ. В целом, представленные данные свидетельствуют о морфофизиологической пластичности *Plantago media*. Экологические условия способствуют формированию экотипа с устойчивым к фотоингибированию фотосинтетическим аппаратом. Благодаря этому растения данного вида способны выживать в экотопах, где они подвергаются действию высокой инсоляции, температуры и недостатка влаги.

## **ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ И АГРОМЕТЕОРОЛОГИЧЕСКАЯ СОСТАВЛЯЮЩИЕ АДАПТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА КУЛЬТИВИРУЕМЫХ РАСТЕНИЙ**

Гончарова Э.А.

ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт им. Н.И. Вавилова;  
ул. Б. Морская, 44, 190000, Санкт-Петербург, тел.: (812)3142234, факс: (812)5718728

E-mail: [e.goncharova@vir.nw.ru](mailto:e.goncharova@vir.nw.ru)

В современной селекции особое значение приобретает создание сортов, способных в конкретных экологических условиях формировать высокий для данного региона урожай с ценными потребительскими качествами. Однако культивируемые растения в природной обстановке зачастую испытывают недостаток основных элементов почвенного питания – водного и минерального обеспечения. Исследования, проведенные в течение ряда лет с набором сортов яровых пшеницы и ячменя (из генетической коллекции растительных ресурсов ВИР), выявили реакцию растений на гидротермические (контролируемые) условия произрастания как в вегетационных, так и в полевых опытах при разных дозах минеральных удобрений.

*Водосберегающая способность.* Экспериментально установлена различная сортовая реакция злаковых на неблагоприятные условия водообеспечения в онтогенезе: в фазу «выход в трубку» в условиях засухи у растений возрастает водный дефицит, снижается оводненность и возрастает водоудерживающая способность листьев; в фазу «колошение-цветение» на засушливом фоне растения испытывают водный дефицит уже на ранних этапах онтогенеза, влияние засухи на закладку и формирование генеративных органов, на снижение продуктивности.

*Аттрагирующая способность.* Расчет удельной аттрагирующей способности зерна дает представление об аттрагирующей способности одной зерновки. Установлено, что условия питания влияют на величину этого признака однотипно. Обнаружено, что кроме фотосинтеза существует еще два источника аттрагируемых растущим зерном веществ – это реутилизация органических веществ («старых» ассимилянтов) из незерновых элементов спелого колоса (колосовые чешуи, стержень колоса и другие) и временно депонированных в вегетативных органах (особенно в стеблевой паренхиме). Долевой вклад этих источников по сравнению с фотосинтезом ниже, особенно у растений на удобренных вариантах опыта; на не удобренном фоне доля реутилизации запасных веществ из стебля превышает вклад колоса; при внесении удобрений значение колоса как источника «старых» ассимилянтов повышается. Неодинаковая отзывчивость разных сортов на удобрения могут быть обусловлены их физиологической индивидуальностью. Сделаны выводы о генотипической специфике зерновых растений на разные дозы азотных удобрений; установлена сортовая специфика избирательности растений в отношении элементов питания. Растения реагируют вначале на температурные условия вегетации, позднее — на условия водоснабжения, и ещё позднее — на действие удобрений. Повышение уровня минерального питания (в оптимальных границах) увеличивает приток пластических веществ к формирующимся зерновкам, а интенсивность этих процессов зависит от терморезима среды и периода роста и налива зерна.



## **ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОМОТОРА ГЕНА ОРНИТИНАМИНОТРАНСФЕРАЗЫ *ARABIDOPSIS THALIANA* В РАЗВИТИИ И В ОТВЕТЕ НА СТРЕССОВЫЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ**

Горелова В.В., Герасимова С.В., Коваль В.С., Дорогина О.В., Кочетов А.В.

Институт цитологии и гентики СО РАН; Лаврентьева 10, 630090, Новосибирск,  
тел: (383) 3634994.

E. mail: vera-gorelova@mail.ru

Митохондриальный фермент орнитинаминотрансфераза (ОАТ) участвует в метаболизме азота. Несмотря на то, что весьма хорошо изучены биохимические характеристики фермента ОАТ, его физиологическая роль у растений до сих пор остается предметом дискуссий. Экспериментами показано, что растения риса и табака, несущие генетические конструкции с геном ОАТ демонстрируют повышенную устойчивость к солевому стрессу. Механизм устойчивости таких растений не ясен. До недавнего времени считалось, что основная роль ОАТ – участие в пути биосинтеза совместимого осмолита – пролина, альтернативном основному – глутаматному. Исследованиями на растениях арабидопсиса показано, что ОАТ может вносить вклад в биосинтез пролина, но основная функция ОАТ заключается в катаболизме аргинина.

Для изучения экспрессии гена ОАТ решено было исследовать промотор гена ОАТ *A. thaliana*. Поскольку структура промотора гена ОАТ была не известна, было запланировано клонирование участка геномной ДНК, непосредственно прилегающей к 5' концу белок-кодирующей части гена ОАТ *A. thaliana* (TAIR, AT5G46180). Был выбран фрагмент геномной ДНК, расположенный между началом белок-кодирующей части гена ОАТ и вышележащей рамкой считывания (TAIR, AT5G46190). Созданы три генетические конструкции, несущие репортерный ген бета-глюкуронидазы (GUS), поставленный под управление различных по длине фрагментов промоторной области с координатами относительно старта транскрипции (-350; +100), (-1274; +100), (-1744; +100). На основе каждой конструкции получены по пять линий трансгенных растений *Nicotiana tabacum*. Проведен их гистохимический анализ. Выявлен базовый паттерн экспрессии репортерного гена, характерный для растений всех трех конструкций (в апексе побега, пазушных почках, новообразующихся боковых корнях и прикорневых участках). Показано, что участок, достаточный для базового паттерна экспрессии находится на участке (-350; +100). Анализ результатов гистохимического анализа показал, что экспрессия GUS наблюдается в меристеме побега и в зонах интенсивного роста. Также проведен гистохимический анализ

проростков, полученных в результате самоопыления растений-трансформантов. До шестого дня с момента прорастания GUS экспрессируется во всех частях растения, к десятому дню экспрессия наблюдается только в семядолях, а трехнедельные проростки уже демонстрируют черты экспрессии, характерные для исследованных растений-трансформантов (экспрессия GUS в апексе). Показана индукция промотора в ответ на различные внешние воздействия.

Проведен компьютерный анализ промотора гена OAT на содержание потенциальных сайтов связывания транскрипционных факторов. Согласно полученным результатам, транскрипционная активность промотора гена OAT *A. thaliana* может регулироваться в ответ на стрессовые воздействия и фитогормоны.

## **ВОЗДЕЙСТВИЕ ТРАНСПОРТНОЙ ЭМИССИИ НА КОМПОНЕНТЫ АОС КУСТАРНИКОВ САНИТАРНО-ЗАЩИТНОЙ ПОЛОСЫ**

Горелова С.В., Колобаева Н.А.

ГОУ ВПО Тульский государственный педагогический университет  
им. Л.Н. Толстого, Тула, пр. Ленина, 125, тел.: (4872)357808, факс (4872)357807

E-mail: [gsvphysiology08@rambler.ru](mailto:gsvphysiology08@rambler.ru)

На живые организмы в урбозекосистемах влияет множество факторов, которые приводят к развитию стресс-реакции. Одним из основных, оказывающих воздействие на древесно-кустарниковые насаждения городов является автотранспортная эмиссия. Для адаптации растений при этом имеет большое значение слаженная работа антиоксидантной системы (АОС) и стабильность пигментного аппарата.

В отличие от данных, полученных для деревьев (снижение количественного содержания хлорофиллов), у кустарников реакция пигментного аппарата на техногенные выбросы неоднозначна и видоспецифична. У большинства видов происходит снижение содержания хлорофиллов *a* на 20-60% и *b* (от 40 до 70%) и каротиноидов на 24-33%. Однако, у ряда видов содержание хлорофиллов увеличивается по отношению к фоновой зоне: у боярышника однопестичного и снежноягодника белого – до 26% хлорофилл *a*; до 50-80% хлорофилл *b*, в 2-4 раза у сирени обыкновенной; до 24-33% – каротиноидов. Такое явление можно рассматривать как компенсаторный механизм при значительном уменьшении общей фотосинтетической поверхности листьев Наибольшей

стабильностью в изменяющихся условиях характеризовался пигментный аппарат чубушника венечного (изменения содержания хлорофиллов и каротиноидов не выявлено).

Низкомолекулярные антиоксиданты, одним из которых является АК, играют важнейшую роль в начальных этапах адаптации растений к окислительному стрессу. У боярышника кроваво-красного, дерна белого, спиреи японской, пузыреплодника, чубушника венечного выявлено снижение АК в условиях воздействия выбросов автотранспорта в 1,4-2,5 раза, у снежноягодника – в 57 раз. У боярышника однопестичного, сирени (обыкновенной и венгерской), кизильника блестящего содержание АК возрастало от 30 до 60%.

Активирование пероксидазы является реакцией, по которой судят об устойчивости растения в стрессовых условиях (Полесская, 2007). Нами установлено увеличение активности пероксидазы чубушника венечного и снежноягодника белого, произрастающих в санитарно-защитной полосе автомагистралей: в 11-22 раза и снижение активности фермента у боярышников в 6-30 раз по сравнению с контролем. При этом, у снежноягодника белого наблюдается резкое снижение содержания АК, которая является субстратом аскорбатпероксидазы. Это свидетельствует об активации связки компонентов АОС АК-пероксидаза в аскорбат-глутатионовом цикле у данного вида и эффективной работе системы в условиях стресса. Основываясь на активности компонентов АОС и устойчивости пигментного аппарата наиболее резистентными в условиях воздействия автотранспортных выбросов следует считать чубушник венечный, снежноягодник белый и кизильник блестящий.

## **ПОСЛЕДСТВИЯ ПОГОДНЫХ СТРЕССОВ ДЛЯ ЦИТРУСОВЫХ КУЛЬТУР (НА ПРИМЕРЕ *Citrus unshiu* Marc.) В ПРИБРЕЖНО-ЧЕРНОМОРСКОЙ ЗОНЕ СУБТРОПИКОВ**

Горшков В.М., Самарина Л.С., Коломиец Т.М.

ГНУ ВНИИ цветоводства и субтропических культур, 354002 г. Сочи, ул. Я. Фабрициуса 2/28, тел.+7 (8622) 96-40-21, факс: +7(8622) 96-42-46

E-mail: [q11111w2006@yandex.ru](mailto:q11111w2006@yandex.ru).

Цитрусоводство, как отрасль, в северном регионе субтропиков России, лимитируется экономическими, экологическими и климатическими условиями. Наряду с этим производство этих плодов для курортной зоны

экономически оправдано. Приоритетными направлениями исследований являются рациональное использование уникальных природных условий и выявление лимитирующих и стрессовых факторов экологии.

Анализ основных погодных условий 2004-2009 гг. выявил отличие их по каждому периоду вегетации (от распускания почек до созревания плодов) и по годам. Погодные показатели: сумма эффективных температур, атмосферные осадки и закономерности их распределения за вегетационный период, а также продуктивной влаги в почве по слоям позволили выявить основные реакции растений на стрессовые факторы. Между количеством выпавших атмосферных осадков и продуктивной влагой в почве установлена прямая корреляционная зависимость ( $r = 0,87$ ). В то же время между эффективной температурой и выпавшими осадками отмечена устойчивая обратная корреляция ( $r = -0,58$  в основном корнеобитаемом слое 0-50 см. Необходимым условием адекватности данного анализа является сопоставление данных по степени интенсивности и стрессовых ситуаций с фенологическими фазами развития citrusовых и их реакция на воздействие дестабилизирующих факторов.

В целом, для российских субтропиков температурный фактор имеет решающее значение. Ограничивающее влияние температуры для выращивания citrusовых особенно проявляется в летний и зимний периоды. Летом температура, как лимитирующий фактор, проявляется через недостаточное обеспечение теплом (2003 и 2006 гг.), которое необходимо для завершения годового цикла развития, а конкретно – созревание плодов.

Обеспеченность влагой, которая складывается из атмосферных осадков и продуктивной (усваиваемой citrusовыми растениями) влаги, - второй по значимости фактор, за счет этой влаги осуществляется нарастание растительной массы и формируется урожай. Последствия экстремального водного режима четко проявились в августе-сентябре 2008-2009 гг., в основной зоне размещения корней (0-50 см) уровень продуктивной влаги был ниже оптимального.

Стрессовые ситуации, вызываемые дефицитом атмосферных осадков и почвенной влаги (как правило с апреля по август), с учетом относительно высокого значения суммы эффективных температур в эти месяцы (в августе более  $800^{\circ}$ ), отрицательно отражаются в дальнейшем не только на сроках прохождения основных фенологических фаз citrusовых (цветение, второй рост побегов – основа урожая будущего года), но и на их продуктивности. Периодичность плодоношения и снижение урожая – главные реакции citrusовых растений на стрессовые факторы.

## **АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА АЛЬТЕРНАТИВНОЙ ОКСИДАЗЫ В МИТОХОНДРИЯХ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ ПРИ ХОЛОДОВОМ ЗАКАЛИВАНИИ**

Грабельных О.И., Побежимова Т.П., Павловская Н.С., Королева Н.А.,  
Войников В.К.

Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения РАН;  
ул. Лермонтова 132, 664033 Иркутск, тел.: (3952)424659, факс: (3952)510754

E-mail: [grolga@sifbr.irk.ru](mailto:grolga@sifbr.irk.ru) (Грабельных О.И.)

В настоящей работе показана связь между активацией альтернативной оксидазы (АО) и генерацией активных форм кислорода (АФК) при холодовом закаливании растений. Активность АО и генерация перекиси водорода изучались на очищенных в градиенте перколла митохондриях озимой пшеницы *Triticum aestivum* L. (сорт Иркутская озимая), изолированных из проростков, подвергнутых одной (7 суток при 2-3°C) и двум (7 суток при 2-3°C и 2 суток при -2°C) фазам холодового закаливания (ХЗ). Митохондрии из проростков, подвергнутых холодовому закаливанию, имели повышенный уровень генерации АФК. Содержание АФК при прохождении проростками одной фазы ХЗ было в 1,8 раза больше по сравнению с контролем, а при прохождении двух фаз ХЗ – в 3,21 раза. Однако если субстрат окисления сукцинат усиливал генерацию АФК в контрольных митохондриях (в 1,55 раза), то закаливание проростков (как первая фаза, так и вторая) эффективно предотвращало способность субстрата повышать уровень генерации АФК. С использованием сукцината показано увеличение активности АО в первую фазу ХЗ (в 1,9 раза по сравнению с контролем), сопряженное со снижением цитохромного пути транспорта электронов. Антимидин А не вызывал усиления генерации АФК в митохондриях из проростков, прошедших первую фазу ХЗ, а эффект салицилгидроксамовой кислоты (СГК) был в 2,3 раза снижен по сравнению с таковым на контрольных митохондриях. Также по сравнению с контрольными митохондриями было более выражено снижение генерации перекиси водорода цианидом и пропилгаллатом. Учитывая, что при ХЗ происходит активация АО, то можно предполагать, что ее антиоксидантная роль является одной из причин снижения способности дыхательной цепи генерировать АФК. Усиление антимидином А генерации АФК в митохондриях из проростков, прошедших две фазы ХЗ, было в 1,5 раза меньше чем в контроле, цианид и пропилгаллат также эффективно как и на первом этапе ХЗ снижали образование АФК. СГК, как и в

контроле усиливала генерацию АФК. Учитывая, что активации АО после прохождения второй фазы ХЗ не происходило, уровень АФК в митохондриях был более высокий, но сукцинат и антимицин А вызывали усиление генерации АФК в меньшей степени по сравнению с контролем, было предположено, что в этих условиях функционируют разобщающие белки. Действительно, разобщение окислительного фосфорилирования с участием разобщающих белков было более выражено в митохондриях из проростков озимой пшеницы, прошедших две фазы ХЗ. Таким образом, антиоксидантная роль альтернативной оксидазы проявляется при действии на растения низких положительных температур на фоне некоторого повышения уровня АФК, которые в данном случае выполняют функцию сигнальных молекул.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ (№08-04-01037 и №10-04-00921).

## **ИЗМЕНЕНИЯ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА, УРОВНЯ НЕНАСЫЩЕННОСТИ ЖИРНЫХ КИСЛОТ И АКТИВНОСТИ ДЕСАТУРАЗ В ТКАНЯХ ТРАВЯНИСТЫХ РАСТЕНИЙ, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ НА БЕРЕГАХ ОЗЕРА БАЙКАЛ ПРИ АБИОТИЧЕСКОМ СТРЕССЕ**

Граскова И.А., Живетьев М.А., Дударева Л.В., Столбикова А.В., Войников В.К.

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН; ул. Лермонтова 132, 664033 Иркутск, тел.: (3952)426540, факс(3952)510754

E-mail: [graskova@sifibr.irk.ru](mailto:graskova@sifibr.irk.ru)

Проблема адаптации растений к низкотемпературному стрессу, помимо сельскохозяйственного аспекта, имеет большое экологическое значение, т.к. способность растений адаптироваться к конкретным условиям – это один из факторов, определяющих ареалы распространения диких видов и возможность их интродукции. Считается, что липиды клеточных мембран играют ключевую роль в процессах адаптации и формировании устойчивости растений к неблагоприятным факторам внешней среды, прежде всего к холоду. Был исследован жирнокислотный состав липидов в тканях травянистых растений, произрастающих на берегах озера Байкал, при действии низких температур. Сбор растительного материала (вероника дубравная – *Veronica chamaedrys* L., манжетка обыкновенная – *Alchemilla vulgaris* L., тысячелистник – *Achillea* sp., одуванчик – *Taraxacum* sp.) проводили

в пойме реки Выдринная, 600 м от уреза оз. Байкал, левый берег реки, стационар СИФБРа. В составе ненасыщенных жирных кислот всех изученных видов преобладают полиненасыщенные жирные кислоты – линолевая и  $\alpha$ -линоленовая, характеризующиеся высоким значением индекса ненасыщенности (до 4.96), что свидетельствует о их холодоустойчивости. Исследование межвидовой изменчивости у данных растений по жирнокислотному составу выявило высокий уровень ЖК с 18 атомами углерода. Высокая степень ненасыщенности жирных кислот в тканях листьев всех видов обусловлена, в основном, двумя кислотами – линолевой (C18:2 п-6) и  $\alpha$ -линоленовой (C18:3 п-3). Основная доля насыщенных жирных кислот приходится на пальмитиновую кислоту, самое большое количество которой было отмечено у вероники (19.89) и самое маленькое – у одуванчика. У всех растений детектирована миристиновая кислота C14, гептадекаденовая C17, а также длинноцепочечные жирные кислоты с числом атомов углерода больше 18 (арахиновая C20, бегеновая C22, лигноцереновая C23). Пентадекановая кислота C15 была обнаружена только у одуванчика. Пальметоолеиновая и гексадекатриеновая кислоты были детектированы только у манжетки. Анализ сезонных изменений в составе жирных кислот четырех видов лекарственных растений показал, что по мере снижения среднесуточной температуры происходит снижение содержания насыщенных и увеличение содержания ненасыщенных жирных кислот. Установлено, что адаптация мембранных липидов к понижению среднесуточной температуры воздуха у исследуемых растений, носит видоспецифичный характер и связана с активностью разных десатураз.

## **ПРОЛИН ФУНКЦИОНИРУЕТ В КАЧЕСТВЕ ХИМИЧЕСКОГО ШАПЕРОНА ПРИ ДЕЙСТВИИ ХЛОРИСТОГО НАТРИЯ И МЕДИ**

Гринин А.Л., Холодова В.П., Иванова Е.М., Кузнецов Вл.В.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, 117276, Москва, ул Ботаническая 35, тел. 977 9254, факс 977 8018.

E-mail: *v-p-kholodova@ippras.ru* (Холодова В.П.)

Среди абиотических стрессоров, оказывающих наиболее сильный токсический эффект на растения засоление и воздействие тяжелых металлов (ТМ) являются наиболее распространенными. В процессе эволюции в условиях стресса у растений сформировались механизмы устойчивости,

среди которых важную роль играет накопление аминокислоты пролина (Про).

Влияние засоления изучали на растениях *Brassica juncea*. При действии 100 мМ NaCl на 10-е сутки эксперимента происходило снижение свежей массы листьев на 40%. Засоление приводило к интенсивному накоплению  $\text{Na}^+$  и  $\text{Cl}^-$ , что сопровождалось быстрой аккумуляцией свободного Про. В результате на 10-е сутки эксперимента концентрации Na, Cl и Про в листьях превосходили исходные величины в 7, 10 и 9 раз, что соответствовало функции Про как совместимого осмолита. Однако при продолжении воздействия наблюдалось резкое снижение содержания Про, происходившее при сохранении высоких концентраций неорганических ионов и пониженного осмотического потенциала листьев. На растениях *Brassica napus* сильное повышение содержание Про было зафиксировано при действии  $\text{CuSO}_4$ , стрессора, не вызывавшего резких изменений осмотического потенциала. Оказалось, что 50 и 150 мкМ  $\text{CuSO}_4$  к 10 суткам эксперимента вызывали увеличение содержания Про в 2 и 5 раз, соответственно. Полученные данные позволили выдвинуть предположение, что Про при действии этих двух различных стрессоров мог выполнять не только функцию совместимого осмолита, но и химического шаперона.

Защитные функций Про в качестве химического шаперона оценивали, изучая влияние NaCl и меди на активность фермента малатдегидрогеназы (МДГ) *in vitro*. Предварительно были изучены концентрационная и временная зависимости воздействия NaCl и  $\text{CuSO}_4$  на активность МДГ. Оказалось, что при действии 100 мМ NaCl в течение 2 мин ингибирование активности фермента составляло 20%, при 300 мМ – 65%. При 2-х мин воздействия 0.1 нМ  $\text{CuSO}_4$  активность МДГ снижалась на 40%, влияние концентраций в диапазоне от 10 нМ до 1 мкМ приводило к потере активности на 60-70 %. Далее были подобраны оптимальные концентрации и время, за которое Про восстанавливал активность фермента. При добавлении 500 мМ Про наблюдалось полное восстановление активности МДГ после ингибирования 100 мМ NaCl и 50% восстановление активности фермента при ингибировании 300 мМ NaCl. При действии  $\text{CuSO}_4$ , 500 мМ Про за 10 мин на 20 % восстанавливал активность фермента, заингибированного 0.1 нМ  $\text{CuSO}_4$  и на 30% – за 60 мин. Про в концентрации выше 1 М оказывал токсическое действие на активность МДГ. Таким образом, впервые установлено, что Про, восстанавливая активность МДГ, подавленную действием NaCl и  $\text{CuSO}_4$ , выступает в качестве химического шаперона.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 10-04-00799-а и Программы Президиума РАН “Молекулярная и клеточная биология”.



## **УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ И ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ СТРЕССОВОМ ВОЗДЕЙСТВИИ СОЕДИНЕНИЙ ФТОРА**

Гришко В.Н.

Криворожский ботанический сад Национальной академии наук Украины;  
ул. Маршака 50, 50089, г. Кривой Рог, Украина

E-mail: [vit.grishko@rambler.ru](mailto:vit.grishko@rambler.ru)

Влияние токсикантов на рост растения, как правило, оценивается по изменению прироста корневой системы. В формировании физиологической устойчивости растений к действию различных факторов важную роль играют антиоксидантные системы (аскорбиновой кислоты, глутатиона и др.). Поэтому целью работы была оценка устойчивости и изменения накопления глутатиона и аскорбиновой кислоты у растений при действии соединений фтора. Проведенные модельные эксперименты по изучению токсичности фтористого калия, натрия и аммония в концентрациях 5, 10, 50, 80 и 100 мг F<sup>-</sup>/л на проростки кукурузы (гибрид Днепровский 310), гороха (сорт Норд) и овса (гибрид Пи-2) показали, что наименьшую толерантность к соединениям фтора проявлял горох. Относительно высокая устойчивость к фторидам была характерна для овса, тогда как у кукурузы она была несколько меньшей. Фтористый аммоний оказывал на проростки меньший токсический эффект, чем фтористый калий и натрий. Для кукурузы и гороха различное влияние катионов используемых солей четче проявлялось при низких концентрациях фтора (от 5 до 50 F<sup>-</sup>/л). Для овса, в указанных выше вариантах опытов, установлено наличие стимуляции роста главного корня. Показанная выше различная чувствительность растений к соединениям фтора обусловила изучение специфики функционирования антиоксидантных систем глутатиона и аскорбиновой кислоты. При минимальной концентрации фтора особенностью стрессового ответа проростков являлось исчерпание имеющегося пула аскорбиновой кислоты. При возрастании концентрации фтора повышался уровень последней как в корнях, так и в листьях проростков овса и кукурузы. С увеличением поступления фтора в растения овса и кукурузы (при действии 10 мг F<sup>-</sup>/л), вероятно, происходит «запуск» механизмов синтеза глутатиона или его восстановление ферментной системой глутатионредуктазы. В листьях гороха, как менее устойчивой культуры, при возрастании концентрации фтора отмечено уменьшение уровня антиоксидантов (как аскорбиновой кислоты, так и глутатиона), тогда

как в корнях эта тенденция характерна только для глутатиона. Изучение устойчивости трансгенных растений табака (с увеличенной в 39 раз активностью аскорбатпероксидазы) при выращивании в модельном эксперименте с внесением в чернозем обыкновенный фтористого натрия в концентрациях 50, 500 и 1000 мг F<sup>-</sup>/кг показало, что с его увеличением возрастает интенсивность ПОЛ (в 1,5-1,7 раз по сравнению с диким типом). Причем, если при внесении в почву минимальной концентрации фтористого натрия у трансгенных растений количество ТБК-активных продуктов не отличалось от контроля, то в листьях дикого типа увеличивалось на 72%. Проявляющаяся визуально повышенная устойчивость к соединениям фтора у генетически модифицированных растений обуславливается как изменениями в накоплении аскорбиновой кислоты и ее метаболитов (дегидроаскорбиновой и 2,3 дикетагулоновой кислоты), так и активности соответствующих ферментов.

## **АДАПТАЦИЯ ВИДОВ РОДА *POPULUS* К ДЕЙСТВИЮ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ**

Данильчук А.В., Гришко В.Н.

Криворожский ботанический сад Национальной академии наук Украины,  
ул. Маршака 50, Украина 50089 Кривой Рог, тел.:(0564)384473, факс(0564)384803

E-mail: [danilchuk.san@mail.ru](mailto:danilchuk.san@mail.ru) (Данильчуку А.В.)

В результате загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами возрос интерес к исследованию разных аспектов металлоустойчивости растений. Для выяснения механизмов адаптации у тополей, на промышленных площадках горно-перерабатывающих предприятий были изучены процессы аккумуляции тяжелых металлов, интенсивности ответных реакций ПОЛ и функционирования АОС, что и составило цель работы. Анализ полученных результатов показал, что в ассимиляционных органах тополей в условиях загрязнения наблюдается повышенный уровень накопления тяжелых металлов по сравнению с контролем. Так, в листьях *P. italica*, растущих на промплощадках Северного и Центрального горно-обогатительных комбинатов (г. Кривой Рог), Fe, Cu и Zn накапливается в 1,2-4,8 раза больше, чем у *P. simonii*, *P. deltoides* и *P. candicans*. В то же время количество высоко токсичных Ni и Pb у *P. simonii* в 10-200 раз меньше, чем Fe и Zn. Таким образом, подтверждается постулат о срабатывании защитных барьеров на пути проникновения наиболее токсичных элементов в клетку. Поступление значительных

количеств тяжелых металлов приводит к интенсификации процессов ПОЛ в клетках органов ассимиляции. Так, в листьях *P. italica*, *P. deltoides* и *P. simonii* количество диеновых конъюгатов и диенкетонув увеличивается до 2,2 раза. В условиях загрязнения наиболее быстрыми темпами (в 2,6 раза) повышается количество первичных продуктов перекисного окисления липидов в ассимиляционных органах *P. candicans*. Количество ТБК-активных продуктов в листьях исследуемых видов тополеу в условиях загрязнения в 2-4,7 раза выше по сравнению с контролем. Рост растений в неблагоприятных условиях сопровождается активацией адаптационных процессов, о чем свидетельствуют данные изменения количества антиоксидантов. Так, на промплощадках с разным уровнем загрязнения в листьях исследуемых тополеу количество аскорбиновой кислоты уменьшается в среднем до 1,8 раз. У *P. simonii* и *P. deltoides* количество глутатиона уменьшается в 1,3 и 1,6 раза соответственно, тогда как для *P. candicans* не установлено статистически достоверного его снижения. Таким образом, по степени концентрации тяжелых металлов наибольшими их накопителями являются *P. italica* и *P. deltoides*. Наряду с этим у вышеперечисленных видов процессы поражения мембранных структур проходят менее интенсивно чем у *P. simonii* и *P. candicans*, что свидетельствует о большей устойчивости первых к действию поллютантов.

Работа выполнена в рамках проекта № 36-10 «Транслокация тяжелых металлов и фтора в системе «почва-растение» и повышение устойчивости растений при действии абиотических факторов» целевой комплексной междисциплинарной программы научных исследований НАН Украины.

## **МЕТОДЫ И ПОДХОДЫ К ОПРЕДЕЛЕНИЮ НАЧАЛЬНОЙ И АДАПТИВНОЙ ТЕПЛОУСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ И ИХ ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ**

Даскалюк А.П., Иванова Р.А., Раля Т.Х., Кэлуэру-Спэтару Т.Н.

Институт генетики и физиологии растений АН Молдовы; Пэдурий 20, МД-2002  
Кишинэу, тел.: (37322)530177, факс: (37322)556180

E-mail: [dascaluica@yahoo.com](mailto:dascaluica@yahoo.com) (Даскалюку А.П.); [ralivanova@yahoo.com](mailto:ralivanova@yahoo.com) (Ивановой Р.А.)

Каждый вид и генетическая форма растений характеризуется специфическими морфологическими и физиологическими особенностями, которые могут меняться в зависимости от этапа онтогенеза и условий окружающей среды. В последние годы, в связи с угрозой глобального

потепления климата, все большее внимание уделяется вопросам, связанным с определением теплоустойчивости разных генотипов растений, включая и потенциал ее повышения за счет адаптаций. Идентификация этих характеристик имеет большое практическое значение. Точное их определение позволяет оптимизировать методы селекции устойчивых генотипов, проводить научно-обоснованный скрининг препаратов, модифицирующих теплоустойчивость растений, рационально использовать реальные природные условия определенной местности и др. Учитывая тот факт, что теплоустойчивость растений является сложным признаком, методы ее определения по возможности должны быть интегральными, взаимно дополняющими и высокой производительности. В этой связи, мы провели сравнительный анализ ответной реакции различных однолетних и многолетних растений (в том числе и вечнозеленых) с использованием биохимических, физиологических и биофизических методов. В результате была разработана интегрированная система, которая включает следующие показатели состояния растений: скорость роста корней и наземной части; состояние клеточных мембран (по утечке электролитов); активность различных параметров фотосинтеза (на основании параметров флуоресценции); окислительно-восстановительный потенциал клеточной жидкости (потенциометрический метод). Каждая из указанных характеристик является интегральной и в то же время затрагивает характерный круг процессов и свойств. Применение этих подходов отдельно и в комплексе позволило оценить характерные изменения теплоустойчивости листьев вечнозеленых растений в годичном цикле; первичные и адаптивные компоненты теплоустойчивости прорастающих семян различных сортов пшеницы; теплоустойчивость листьев различных видов дуба и др. Как правило, результаты, полученные разными методами, хорошо коррелируют между собой. Разработанная система была использована для скрининга соединений, обладающих биологической активностью. Она позволила получить препарат Реглалг, выделенный из водорослей и обладающий свойствами регулятора роста растений. Указанный препарат получил разрешение для применения в сельском хозяйстве Молдовы. Полученная система постоянно совершенствуется и проверяется в научных центрах Украины, Румынии, Венгрии и США. Ставится задача проверки ее эффективности для оценки состояния растений после воздействия различных стрессовых факторов. В настоящее время ее эффективность, вместе с эффективностью препарата Реглалг, подтверждена при выращивании винограда на юге Молдовы в согласии с требованиями экологического земледелия.

## **ВОССТАНОВЛЕНИЕ РОСТА И ПРОЛИФЕРАЦИИ КЛЕТОК В КОРНЯХ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ (*Triticum aestivum* L.) ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ СУЛЬФАТА НИКЕЛЯ**

Демченко Н.П., Калимова И.Б., Демченко К.Н.

Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН; ул. проф. Попова, 2, 197376 Санкт-Петербург, тел.: (812)3464477, факс (812)3463643

E-mail: [demch@yandex.ru](mailto:demch@yandex.ru) (Демченко Н.П.)

Основной стратегией растений при воздействии различных стрессовых факторов является сохранение способности клеток апикальных меристем к восстановлению роста и пролиферации. Действие тяжелых металлов быстро отражается на процессах морфогенеза корневой системы растения.

Одним из распространенных тяжелых металлов, загрязняющих окружающую среду, является никель. Изучение динамики роста корней проростков яровой пшеницы, пролиферации клеток разных тканей (чехлика, ризодермы и метаксилемы) и структурных изменений в клетках под воздействием  $\text{NiSO}_4$  в высокой (0.1 мМ) концентрации в течение 72 ч выявило ряд важных закономерностей (Демченко, Калимова, 2008). Основным механизмом прекращения пролиферации клеток в меристеме было ингибирование перехода клеток к синтезу ДНК, которое оказалось наиболее ранним (через 6 ч) эффектом никеля на процессы морфогенеза. Целью настоящей работы было выявить особенности восстановления роста корня, пролиферации и дифференциации клеток после удаления из среды ионов никеля. Кроме того, установить, является ли ингибирование перехода клеток к синтезу ДНК под воздействием никеля адаптационным механизмом, который позволяет сохранить способность клеток меристемы восстановить их рост и пролиферацию и затем перейти к растяжению.

Корни 3-суточных проростков озимой пшеницы, выращенных на аэрируемом растворе Кнопа (0.25 нормы), помещали в среду с 0.1 мМ  $\text{NiSO}_4$  и выращивали в течение 48 ч. Затем проростки переносили на среду без никеля. Измеряли длину корней и кончики фиксировали через разные промежутки времени в течение 72 ч, предварительно поместив их на 1 ч в раствор с метил- $^3\text{H}$ -тимидином в концентрации 80 кБк/мл. Анализ прироста корней после удаления никеля из среды показал, что медленный рост корней продолжался и в течение 24 ч, затем снижался к 32 ч и существенно возрастал к 48 ч. Скорость роста корней в следующие сутки возрастала. Прослежена динамика накопления синтезирующих

ДНК (индекс меченых клеток – ИМК) и делящихся клеток (митотический индекс – МИ). Через 48 ч инкубации корней с никелем в некоторых корнях еще встречались отдельные синтезирующие ДНК и делящиеся клетки. Через 24 ч после удаления никеля из среды доля таких корней резко уменьшалась. Почти половина из изученных корней имела ИМК и МИ близкие по величине с корнями контрольных растений или высокий ИМК. В чехлике ИМК и МИ восстанавливались у всех корней к 48 ч, а в ризодерме и ксилеме – 56 ч. Установлено, что растяжение клеток начинается только после восстановления пролиферации клеток в меристеме. Растяжению клеток предшествует резкое увеличение относительной скорости роста (скачок) в одной или нескольких клетках, которое в некоторых корнях не ингибировалось и через 48 ч воздействия никеля. Начало растяжения сопровождалось появлением вблизи меристемы корневых волосков, расстояние от них до меристемы увеличивалось по мере возрастания числа клеток в зоне растяжения.

## **ВЛИЯНИЕ БРАССИНОСТЕРОИДОВ НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТАТИВНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ ОСМОТИЧЕСКОГО СТРЕССА**

Деревянчук М.В.<sup>1</sup>, Драч С.В.<sup>2</sup>, Литвиновская Р.П.<sup>2</sup>, Хрипач В.А.<sup>2</sup>, Кравец В.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины, 02660, Киев, ул. Мурманская, 1, [kravets@bpci.kiev.ua](mailto:kravets@bpci.kiev.ua)

<sup>2</sup> Институт биоорганической химии НАН Беларуси, 220141, Минск, ул. Купревича, 5/2, [khripach@iboch.bas-net.by](mailto:khripach@iboch.bas-net.by)

Браassinостероиды (БС) – класс полиоксигенированных стероидных гормонов растительного происхождения, которые участвуют во многих физиологических реакциях роста и развития, в том числе – адаптации к действию стрессовых факторов среды. Для изучения действия БС в процессах адаптации клетки нами было проведено исследование активности антиоксидантных систем в условиях осмотического стресса на мутантных растениях *bak1-1 Arabidopsis thaliana* по рецепции сигнала БС. Полученные данные указывают на повышенную чувствительность трансгенных растений на действие осмотического стресса. Действие экзогенных БС частично повышало устойчивость мутантных растений к стрессу и значительно способствовало адаптации немутантных растений, что указывает на опосредованность этих процессов восприятием БС рецепторным комплексом. Результаты указывают на уменьшение активности гваякольной пероксидазы и, увеличением

активности каталазы в вариантах с экзогенными БС в условиях осмотического стресса. Также было отмечено более высокие уровни пероксида водорода в клетках немутантных растений на действие БС, что указывает на активизацию процессов развития оксидативного стресса и может обуславливать сигнальную реакцию клетки с индукцией адаптационных механизмов к действию первичного исследованного стрессора – осмотического. БС также стимулируют более высокие уровни малонового диальдегида, накопление которого также может выступать сигнальным событием. Брассиностероиды индуцируют в условиях осмотического стресса значительные уровни пролина по сравнению с контрольными растениями, что также может объяснять позитивную долгосрочную адаптацию растений.

Полученные результаты свидетельствуют об активизации брассиностероидами регуляции метаболизма АФК и индукции оксидативного стресса для развития адаптационных механизмов, которые обеспечивают большую устойчивость растений к осмотическому стрессу. Мутации в рецепторах восприятия гормона значительно ухудшают выживаемость растений в условия осмотического стресса.

Работа выполнена при поддержке Фонда фундаментальных исследований Украины (грант № Ф29.4/019) и Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант № Х09К-029).

## **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА ПРЯМОГО ПРОМОРАЖИВАНИЯ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ РАЗЛИЧИЙ В УСТОЙЧИВОСТИ К НИЗКОЙ ТЕМПЕРАТУРЕ ДВУХ ГЕНОТИПОВ *Solanum tuberosum* L. IN VITRO**

Дерябин А.Н.

Учреждение Российской академии наук Институт физиологии растений  
им. К.А. Тимирязева РАН, Ботаническая ул., 35, 126276 Москва;  
тел.:(499)2318326, факс:(495)9778018

E-mail: [trunova@ippras.ru](mailto:trunova@ippras.ru) (Дерябину А.Н.)

В настоящей работе для выявления различий в устойчивости к низкой температуре генотипов картофеля, выращенных *in vitro*, был применен метод прямого промораживания, позволяющий пренебречь свойством растений развивать максимальную холодостойкость в процессе длительной низкотемпературной адаптации при околонулевых закаливающих температурах. Опыты проводили с

нетрансформированными растениями картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сорта Дезире (контроль), и трансформантами того же сорта, экспрессирующими ген инвертазы дрожжей, находящийся под контролем клубнеспецифичного пататинового промотора В33 класса 1 и с последовательностью лидерного пептида ингибитора протеиназы II для обеспечения апопластной локализации фермента. Растения были отобраны из коллекции клонов, полученных в результате совместной работы сотрудников Института молекулярной физиологии растений им. Макса Планка (Golm, Германия) и Лаборатории сигнальных систем онтогенеза растений им. акад. М.Х. Чайлахяна ИФР РАН. Растения выращивали в течение 5 недель *in vitro* на МС-среде, содержащей 2% сахарозы, при 22°C и 16-ч световом дне. Прямое промораживание интактных растений и отделённых листьев, как модельных объектов, проводили в климатической камере MIR-153 (SANYO, Япония) при температуре минус 5 и 7°C в течение различных промежутков времени. Холодостойкость оценивали визуально по выживаемости спустя сутки после промораживания. Выявлено, что отделённые листья трансформантов, по сравнению с листьями нетрансформированных растений, были способны выдерживать более низкие режимы охлаждения. Эксперименты с интактными растениями показали, что для выявления >50% гибели контрольных растений необходимо было применить более жёсткий режим охлаждения, чем для отделённых листьев. Таким образом, интактные растения обоих генотипов проявляли более высокую устойчивость к низкой температуре, чем отделённые листья. Сравнительный анализ выживаемости растений после различных режимов промораживания свидетельствовал о большей холодостойкости трансформантов, что связано с влиянием измененного соотношения внутриклеточных сахаров под действием чужеродной инвертазы. Ранее нами было показано, что листья трансформантов, благодаря экспрессии гена инвертазы дрожжей, более обогащены сахарами, чем WT-растения [Deryabin et al., 2005. J. Thermal Biol. 30(1):73-77]. Следовательно, это обстоятельство позволило им, согласно результатам промораживания *in vitro*, показать более высокую, по сравнению с контролем, устойчивость к низким отрицательным температурам.



## КОМБИНИРОВАННОЕ ДЕЙСТВИЕ БИОТИЧЕСКОГО И РАДИАЦИОННОГО СТРЕССА НА РАСТЕНИЯ

Дмитриев А.П., Гродзинский Д.М., Гуца Н.И., Крыжановская М.С.

Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины;  
ул. акад. Заболотного, 148, 03650 Киев, тел: (044)2578244, факс: (044)5267104

E-mail: [dmyt@voliacable.com](mailto:dmyt@voliacable.com)

Комбинированное действие этих стрессов на растения представляет потенциальную опасность для окружающей среды, по крайней мере, по двум причинам. Во-первых, малые дозы хронического облучения могут выступать в роли мутагенного фактора и вызывать усиление процессов расообразования, что приводит к возникновению новых более вирулентных клонов в популяциях фитопатогенов. Во-вторых, малые дозы облучения могут усиливать действие биотических стрессоров. Цель работы состояла в изучении влияния комбинированного стресса на растения пшеницы, ржи и кукурузы в Чернобыльской зоне отчуждения.

Растения инфицировали спорами бурой ржавчины на различных участках в зоне ЧАЭС. Фитопатологические учеты показали усиление развития болезни у растений, выросших на участках с повышенным радиационным фоном. Мы попытались выяснить биохимическую природу снижения болезнеустойчивости растений в условиях комбинированного стресса. Оказалось, что под влиянием малых доз облучения снижается удельная активность ингибиторов протеиназ. Так, в зерне пшеницы и ржи их активность снижалась на 35-60% по сравнению с контролем. Растительные ингибиторы протеиназ образуют устойчивые комплексы с протеолитическими ферментами фитопатогенных грибов, в результате чего последние теряют свою активность. Уменьшение активности этих ингибиторов могло приводить к снижению иммунитета растений.

Такое предположение подтвердилось в опытах с высоколизиновой *opaque*-мутантной формой кукурузы, которая обладает повышенной чувствительностью. Эту мутантную форму кукурузы, по аналогии с *ваху*-мутацией ячменя, можно рассматривать как перспективную тест-систему для оценки действия ряда биотических и абиотических стрессовых факторов.

Возбудитель стеблевой ржавчины злаков гриб *Puccinia graminis* Pers. относится к числу наиболее вредоносных патогенов. *P. graminis* был выявлен нами на злаках и дикорастущих злаковых травах в зоне отчуждения. Полученные данные свидетельствуют об активных формо- и расообразовательных процессах в зоне ЧАЭС, в результате которых

происходят изменения структуры популяции *P. graminis*. Обнаружена «новая» популяция возбудителя стеблевой ржавчины с высокой частотой встречаемости более вирулентных клонов по сравнению с другими регионами Украины.

Таким образом, результаты, полученные независимо в условиях вегетационных опытов и на полевых стационарах, свидетельствуют о влиянии радиации на взаимодействия в системе патоген-растение и необходимости организации мониторинга над микроэволюционными процессами у фитопатогенных организмов в Чернобыльской зоне отчуждения.

## **СИГНАЛЬНАЯ РОЛЬ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В ИНДУКЦИИ ЗАЩИТНЫХ РЕАКЦИЙ У *Allium cepa* L.**

Дмитриев А.П., Кравчук Ж.Н., Дяченко А.И.

Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины;  
ул. акад. Заболотного, 148, 03650 Киев, тел: (044)2578244, факс: (044)5267104

E-mail: [dmyt@voliacable.com](mailto:dmyt@voliacable.com)

“Окислительный взрыв” (резкое и избыточное образование АФК) является одной из наиболее ранних реакций растительной клетки на инфицирование. Известно, что АФК оказывают непосредственное токсическое действие на патогенов и катализируют механическое укрепление клеточных стенок. Сейчас вырисовывается новая функция кислородных радикалов – участие их в трансдукции сигнала для экспрессии генов и индуцирования защитных реакций. Ранее мы обнаружили два фитоалексина (ФА) у *A. cepa* и идентифицировали их как 5-октилциклопентан-1,3-дион (цибулин 1д) и 5-гексилциклопентан-1,3-дион (цибулин 2д).

Цель работы состояла в том, чтобы используя ФА как маркеры индуцированной устойчивости, провести поиск биогенных элиситоров среди метаболитов фитопатогенного гриба *Botrytis cinerea* и изучить динамику образования кислородных радикалов (супероксиданиона ( $O_2^-$ ) и пероксида водорода ( $H_2O_2$ )) в клетках *A. cepa* в ответ на обработку различными элиситорами. Среди метаболитов гриба *B. cinerea* нами обнаружены три группы веществ, которые различались по химической структуре и способности индуцировать ФА в клетках *A. cepa*. Наибольшую активность проявляли два элиситора – белковой и углеводной природы.

Используя выделенные биогенные элиситоры мы исследовали пути и динамику образования АФК в суспензионной культуре клеток *A. sera*. Оказалось, что клетки реагируют на обработку элиситорами значительным увеличением количества  $O_2^-$  и  $H_2O_2$ .

Анализ динамики генерирования АФК показал, что «окислительный взрыв» в клетках *A. sera*, индуцируемый биогенными элиситорами из *B. cinerea*, состоит из двух фаз: первой – быстрой фазы, небольшой интенсивности, достигающей максимума через 15 мин, и второй – более продолжительной фазы, характеризующейся значительной генерацией  $O_2^-$  и  $H_2O_2$ . Интенсивность выделения АФК зависела от химической природы и концентрации биогенного элиситора. Можно полагать, что первая быстрая фаза генерирования АФК растительными клетками является их ранним ответом на биотические и абиотические стрессы, включая поранение, и необходима, вероятно, для запуска сигнальных систем. Вторая же фаза – более мощная и продолжительная, наступает спустя 1,5-6 часов после обработки элиситором и коррелирует с проявлением болезнеустойчивости растений.

Полученные данные свидетельствуют, что биогенные элиситоры различной химической природы, выделенные из *B. cinerea*, могут индуцировать образование АФК и последующий синтез ФА в клетках *A. sera*. Кислородные радикалы играют, по-видимому, важную роль в трансдукции сигнала для последующего включения защитных реакций, в частности, синтеза ФА в растительных клетках.

## **ВЛИЯНИЕ НИТРОПРУССИДА НАТРИЯ НА ТРАНСГЕННЫЕ ПО ГЕНУ ЛЕГГЕОГЛОБИНА А СОИ РАСТЕНИЯ ТАБАКА**

Дмитрюкова М.Ю.\* , Баймиев А.Х.\*\* , Рахманкулова З.Ф.\*

\* Башкирский государственный университет, 450007 г. Уфа, ул. З. Валиди, 32  
тел. (347) 273-67-12

\*\* Институт биохимии и генетики, Уфимский научный центр РАН, 450054 г. Уфа,  
пр. Октября, 71. тел. (347) 235-61-00

E-mail: [maradim@mail.ru](mailto:maradim@mail.ru) (Дмитрюковой М.Ю.)

Леггемоглобин (Лг) — миоглобинподобный кислородпереносящий гемопротеид, играющий в клубеньках бобовых важную для азотфиксации роль. Он является одним из регуляторов кислородного режима, поддерживая условия, оптимальные для процесса фиксации азота. Известно, что одной из первоначальных функций гемоглобинов

является участие в цикле NO. В растениях NO участвует в различных физиологических процессах, таких как рост и развитие, формирование устойчивости к болезням, ответ на абиотический стресс. Было показано, что NO образует прочную связь с железом гема Лг, образуя нитрозил-Лг (Лг(II)-NO). Для изучения совместного влияния экзогенного NO и экспрессии гена Лг А сои, нами были созданы трансгенные растения табака (сорт Samsun), несущие ген Лг А сои. Ген был вставлен в Т-ДНК вектора для трансформации растений pCambia 1301 под 35S промотор вируса мозаики цветной капусты по сайту рестрикции Smal. Полученная конструкция была введена электропорацией в клетки *Agrobacterium tumefaciens* штамм AGLO, устойчивые к хлорамфениколу. Трансформирование растений табака проводилось методом листовых дисков. Вектор pCambia 1301 несет ген  $\beta$ -глюкуронидазы (gus), содержащий каталазный интрон. Полученные трансгенные растения окрашивались в синий цвет при обработке реактивом X-Gluc (5-бром-4-хлор-3-индолил- $\beta$ -D-глюкуронид). Экспрессия гена Лг А сои была подтверждена полимеразной цепной реакцией с использованием кДНК, построенной по мРНК, выделенной из трансгенных растений. Расщепление в первом поколении составило 3:1. В качестве контрольных растений использовались нетрансгенные растения табака сорта Samsun. Для изучения влияния NO на рост трансгенных по гену Лг сои, мы выращивали трансгенные растения с добавлением в питательную среду нитропруссид натрия (SNP) (0,5 мМ). Измерение проводили не менее чем в пяти повторностях. Математическая обработка данных проводилась с помощью статистического пакета Microsoft Excel 2007. При добавлении SNP наблюдалось усиление роста трансгенных и нетрансгенных растений. Прирост сухой массы нетрансгенных растений при добавлении SNP увеличился на 40%, трансгенных растений – на 33,3%. Для изучения уровня окислительного стресса было измерено содержание мевалонового диальдегида. В контроле (без добавления SNP) содержание МДА было выше у нетрансгенных растений на 20%. После внесения SNP уровень МДА у нетрансгенных растений снизился на 30%, у трансгенных – только на 18%. Также был измерен уровень ферментов окислительного стресса – каталазы и гваяколпероксидазы. В контроле активность каталазы трансгенных и нетрансгенных растений не отличалась. Уровень гваяколпероксидазы был выше у нетрансгенных растений на 19%. Добавление SNP значительно не изменило уровень каталазы, а разность в активности гваяколпероксидазы у трансгенных и нетрансгенных растений перестала быть статистически значимой. Таким образом, показано, что экспрессия гена Лг А сои снижает положительный эффект SNP, что возможно, связано с реакцией Лг с NO.

## ЭКОЛОГО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ РОДА *SPIRAEA* L. В СТРЕССОВЫХ УСЛОВИЯХ

Долгова Л.Г., Черникова О. В.

Днепропетровский национальный университет имени Олеся Гончара,  
г. Днепропетровск, пр. Гагарина, 72, 49010 Днепропетровск, тел. (380562)474306

E-mail: [tolos@i.ua](mailto:tolos@i.ua) (Черниковой О.В.)

В условиях современной экологической ситуации немаловажно создание устойчивых зеленых насаждений, которые выполняют важнейшие функции в улучшении микроклимата, снижения загрязненности воздушного бассейна, создание более комфортных условий для жизни людей.

Для сохранения и функционирования существующих экосистем, повышения биоразнообразия огромное значение имеют растения из других флористических областей. Среди них привлекают к себе внимание представители рода *Spiraea* L., которые относятся к красиво цветущим кустарникам, и, к сожалению, еще недостаточно используются в зеленом строительстве.

Поэтому комплексное изучение эколого-биологических реакций растений рода *Spiraea* L. на спектр загрязнителей окружающей среды и их роль в оптимизации урботехногенных территорий, а также необходимость использования изучаемых видов для озеленения территорий промышленного города, является достаточно актуальным в наше время.

Ингредиенты выбросов металлургических предприятий накапливаются в вегетативных органах спирей и влияют на метаболические процессы растений. В условиях загрязнения фенологические ритмы смещаются в сторону более раннего начала роста и развития растений. Под воздействием стрессовых экологических факторов увеличивается накопление протекторных осмотически активных веществ (растворимых белков и углеводов). Было выявлено, что не только действие промышленных поллютантов, но и стрессовые погодно-климатические условия приводят к повышению активности дыхания и оксидоредуктаз (особенно каталазы и пероксидазы) в листьях спирей, что свидетельствует о приспособлении к условиям окружающей среды. Приспособленность спирей характеризуется интенсивностью фотосинтеза, а также повышением количественного состава пигментов: хлорофиллов и каротиноидов. Определение качественного состава позволило выявить доминирующую роль хлорофилла *a*. Исследование степени засухоустойчивости показало более прочную связь хлорофилла с белково-липоидным комплексом хлоропластов по сравнению с менее засухоустойчивыми растениями.

Определение декоративности растений рода *Spiraea* L. имеет практическое значение, поскольку позволило рекомендовать их для озеленения территорий различного назначения.

## **РОЛЬ КОМПОНЕНТОВ СИСТЕМЫ ПРОТЕОЛИЗА В АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ ЛЮПИНА (*Lupinus angustifolius* L.) К ТЯЖЕЛЫМ МЕТАЛЛАМ**

Домаш В.И., Шарпио Т.П., Забрейко С.А.

Институт экспериментальной ботаники им.В.Ф.Купревича НАН Беларуси,  
ул.Академическая,27, 220072 Минск, тел.: (375 17) 2841660, факс: (375 17 2841853

E-mail: [domash@biobel.bas-net.by](mailto:domash@biobel.bas-net.by); [valdomash@mail.ru](mailto:valdomash@mail.ru) (Домаш В.И.)

Растения постоянно подвергаются воздействию различных экологических факторов. Наиболее актуальной является проблема загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами. В связи с этим весьма важным представляется изучение физиолого-биохимических механизмов адаптации растений к различным поллютантам. Особого внимания заслуживает изучение системы протеолиза в связи с той огромной ролью, которую она играет в клеточном метаболизме растений. Наши исследования показали, что индекс толерантности люпина узколистного к ионам кадмия снижается с увеличением его концентрации. Наблюдаются изменения и в активности системы протеолиза. Так, показано, что под действием 0,2 мМ CdCl<sub>2</sub> в листьях люпина узколистного (сорт Миртан) в условиях водной культуры на 12% повышается активность нейтральных протеаз. Активность же ингибиторов трипсина повышалась в 2 раза. Электрофорез ингибиторсодержащей фракции белков в ПААГ позволил установить появление новых зон с ОЭП в области 0,1 и 0,15. В условиях вегетационного опыта при действии 0,1 мМ CdCl<sub>2</sub> наблюдалось повышение активности нейтральных, щелочных протеаз и ингибиторов трипсина в листьях люпина в среднем на 20%. Установлено изменение активности компонентов системы протеолиза и в семядолях и зародышах прорастающих семян люпина узколистного под действием ионов свинца. Проращивание семян разных сортов люпина узколистного в присутствии 0,3 мМ Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> позволило установить тесную корреляционную связь ( $r = -0,92 \pm 0,07$ ) между активностью щелочных протеаз и толерантностью к свинцу. Результаты исследований показали, что на более поздних этапах роста и развития люпина узколистного начинаются адаптационные перестройки,

способствующие выживанию растений и получению урожая семян хорошего качества. В зрелых семенах люпина активность нейтральных и щелочных протеаз по вариантам опыта оставалась на уровне контроля или незначительно повышалась. Активность же ингибиторов протеиназ повышалась в зависимости от концентрации ионов свинца на 18-64%. Увеличение активности сопряжено с появлением новых электрофоретических компонентов. Полученные данные говорят о роли этих белков в процессах адаптации. Стрессоры, как известно, вызывают накопление активных форм кислорода, инактивация которых происходит благодаря действию антиокислительных веществ, в число которых входят и белки-ингибиторы. Наши ранее проведенные исследования показали антистрессовый характер этих биополимеров.

## **ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ГАЛОФИТОВ ОСУШЕННОГО ДНА АРАЛА**

Достанова Р.Х.,\* Султанова Н.А.\*\* , Алешковский А.В.\*

\* Институт биологии и биотехнологии растений МОН РК, ул. Тимирязева 45, 050040 Алматы, тел. (7272)3947562

\*\* Казахский Национальный университет им.аль-Фараби, ул. Карасай батыра 95А, 0500040 Алматы, тел. (7272)2927026

E-mail: *raushan.d@mail.ru*

Изучение фенольного статуса растений остается одним из важных подходов в познании механизма действия солей на обмен веществ и роли метаболитов, лежащих в основе внутриклеточной регуляции солейстойчивости. Участие фенольных соединений (ФС) в защитных реакциях растений отмечалось неоднократно, однако это не затрагивало вопросы устойчивости галофитов. Цель исследования – изучение особенностей накопления отдельных групп ФС в зависимости от видовой принадлежности и способов адаптации галофитов, произрастающих на осушенном дне Арала (северное и восточное побережье Малого моря). Из исследованных галофитов к эвгалофитам относятся 19 видов из семейства Chenopodiaceae, криногалофитам – 5 видов Tamaricaceae, 1 – Frankeniaceae, гликогалофитам – 5 видов Polygonaceae и 2 – Limoniaceae. Установлено, что все изученные виды аккумулируют фенолокислоты, флавоноиды присутствие других групп фенольных веществ неоднозначно. Для фенольного комплекса (ФК) растений Chenopodiaceae характерно высокое содержание флавоноидов

(флавонолы, флавоны), фенолокислот, кумаринов и отсутствие катехинов, дубильных веществ, антоцианов. Соленепроницаемые виды Polygonaceae, напротив, аккумулируют более восстановленные формы флавоноидов – катехины, антоцианы и конденсированные дубильные вещества. Аналогичная картина ФК характерна для видов Limoniaceae, содержащих так же конденсированные дубильные вещества, а для солевывделяющих видов Tamaricaceae и Frankeniaceae специфично накопление гидролизуемых дубильных соединений. В ходе исследования выявлено, что аккумуляция определенных групп ФС ассоциируется с видовой принадлежностью и различиями в способах адаптации галофитов к засолению среды: эвгалофиты аккумулируют флавоноиды – флавонолы, флавоны, криногалофиты синтезируют гидролизуемые дубильные вещества, гликогалофиты – конденсированные танины. Полученные результаты позволили выявить специфику качественного состава ФК галофитов, выработанную в процессе адаптации к солевому стрессу, что способствовало формированию экологически устойчивой природной популяции. Скрининг ФС галофитов представляется важным для оценки состояния видов и популяций родов как новых источников натуральных средств, которые могут быть использованы в медицине и в народном хозяйстве для разработки экологически чистых и безопасных биопрепаратов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Международного гранта ИНТАС Арал-2000 № 1013.

## **ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В ПРОРОСТКАХ ЯЧМЕНЯ ПРИ СОВМЕСТНОМ ДЕЙСТВИИ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОГО СТРЕССА И ОВОДНЕНИЯ**

Дремук И.А.

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Беларусь 220072, Минск, ул. Академическая, 27, тел: +375293364066

E-mail: [irinadremuk@yandex.ru](mailto:irinadremuk@yandex.ru)

В ходе онтогенеза растения часто сталкиваются с неблагоприятными воздействиями окружающей среды, которые в свою очередь вызывают накопление в растительных тканях активных форм кислорода (АФК) и запускают окислительные процессы (окислительный стресс). Одним из показателей повреждений клеточных мембран в результате



окислительного стресса является уровень продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ). В данной работе изучено содержание малонового диальдегида (МДА) в зеленых проростках ячменя в условиях совместного действия низкотемпературного стресса и оводнения. В качестве объекта исследования использовали зеленые проростки ячменя (*Hordeum vulgare* L.) сорта Гонар, выращенные при температуре +23°C ( $\pm 2^\circ\text{C}$ ) в режиме 14 ч света (интенсивность 150 мкмоль квантов/(м<sup>2</sup>·с)) и 10 ч темноты. Для моделирования совместного действия низкотемпературного стресса и оводнения 5-дневные растения ячменя на 3-е суток (стрессовый период) помещали в холодильную камеру с температурой +4°C и указанным выше фотопериодом и заливали водой до середины coleoptilya, после чего растения возвращали на 3-е суток в нормальные условия выращивания (постстрессовый период). Пробы для исследования брали через 1 и 3 суток после начала действия стресса, а также через 48 часов после прекращения действия стрессовых факторов. Контролем служили растения ячменя, выращенные в нормальных условиях. В качестве дополнительных контролей использовали растения, находившиеся в условиях низкотемпературного стресса (+4°C) с нормальным водоснабжением, а также растения, находившиеся в условиях оводнения при температуре +23°C. Показано, что до начала действия стрессовых факторов в опытных и контрольных вариантах уровень МДА был практически одинаковым. Через 1 сутки действия низкой температуры и оводнения регистрировали увеличение содержания МДА как при совместном действии данных стрессоров, так и при их раздельном воздействии. Через 3 суток совместного действия низкотемпературного стресса и оводнения уровень содержания МДА в растениях увеличился в 1,8 раз по сравнению с растениями, выращенными в нормальных условиях, в 1,3 раза по отношению к растениям, находящимся при низкотемпературном стрессе, и в 1,2 раза по сравнению с растениями, выращенными в условиях оводнения. Следует отметить, что при низкотемпературном стрессе количество продуктов ПОЛ в растениях было выше контроля в 1,5 раза, в то время как при оводнении содержание МДА превышало контроль только в 1,3 раза. После окончания действия стрессовых факторов содержание продуктов ПОЛ в растениях снижалось до уровня контроля.

## РЕАКЦИЯ АКТИВНО ВЕГЕТИРУЮЩИХ РАСТЕНИЙ НА ТЕМПЕРАТУРУ

Дроздов С.Н.

Учреждение Российской академии наук Институт биологии Карельского научного центра РАН, ул. Пушкинская, 11, 185910, Петрозаводск, тел.: (8142)762712, факс: (8142) 769810

E-mail: [holoitseva@krc.karelia.ru](mailto:holoitseva@krc.karelia.ru) (Дроздову С.Н.)

Растение, будучи пойкилотермным организмом, имеет, в основном, температуру окружающей среды, которая может изменяться даже в вегетационный период в широких пределах. Анализ литературных и экспериментальных данных показал, что температуры, действующие в природе на растения, подразделяются на пять зон: фоновую и по две закаливающих и повреждающих в областях повышенных и пониженных ее значений соответственно. Границы зон специфичны для генотипа и зависят от фазы его развития и условий внешней среды (Дроздов и др., 1984).

Изменение температуры в пределах фоновой зоны не влияет на уровень терморезистентности растений, а  $\text{CO}_2$ -обмен носит периодический характер и не имеет последствий (Акимова, Попов, 1977), при высокой составляющей дыхания роста (Попов и др., 1977). Уровень видимого фотосинтеза при прочих благоприятных условиях не менее 90% от потенциального максимума (Дроздов, Курец, 2003). Величина дыхательного коэффициента близка к единице (Сычева и др., 1980).

Температуры зон холодого и теплого закаливания вызывают повышение устойчивости растений, эффективность которой возрастает по мере их отклонения от фоновой зоны и достигает максимума при температуре близкой к повреждающей, а при постепенном усилении закаливающей температуры граница зоны смещается в сторону более экстремальных ее величин. Возрастает сила влияния температуры на  $\text{CO}_2$ -обмен. С помощью ингибиторного метода показана зависимость повышения устойчивости от белоксинтезирующих систем в цитоплазме, хлоропластах и митохондриях (Сычева и др., 1980). Увеличивается активность РНК-полимеразы (Критенко и др., 1987) и поверхность внутриклеточных мембран (Балагурова, 1983), возрастает интенсивность дыхания за счет повышения составляющей поддержания, при снижении составляющей роста (Дроздов и др., 2005; Попов и др., 2003), увеличивается доля гликолиза (Сычева, Васюкова, 1972), рН ткани смещается в нейтральную сторону, изменяются электрохимические свойства легко растворимых белков при высоком уровне энергообеспеченности, повышается дыхательный коэффициент, возрастает сопряженность окисления с фосфорилированием

и фотофосфорилирование. Увеличивается содержание защитных веществ, снижается оводненность тканей (Сычева и др., 1980).

Повреждающие температуры приводят к нарушению энергообеспечения клеток и в конечном итоге к их гибели. Первопричиной повреждающего влияния низких температур является переход мембранных липидов из жидкокристаллического состояния в гель (Родионов, 1978; Климов и др., 1993), что приводит к сжатию молекул, увеличению пор и проницаемости мембран, в том числе лизосом (Трунова, 2009), возрастает активность гидролитических ферментов (Барская, 1977). Наряду с молекулярно-генетическими механизмами формирования терморезистентности, растения располагают и другими путями ее повышения.

## **НАКОПЛЕНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ КРЕСТОЦВЕТНЫМИ УРБАНОФЛОРЫ г. САНКТ-ПЕТЕРБУРГ**

Дроздова И.В., Дорофеев В.И., Алексеева-Попова Н.В.

Ботанический Институт им. В.Л. Комарова РАН, ул. Проф. Попова 2, 197376  
Санкт-Петербург, тел.: (812)3464429, факс: (812)3463643

E-mail: [Alyssum7@gmail.com](mailto:Alyssum7@gmail.com)

Большинство известных в мире видов – гипераккумуляторов тяжелых металлов (ТМ), в частности Zn, Ni, Cu, способны накапливать высокие (в 100 и более раз) концентрации металлов по сравнению с обычными видами (Brooks, 1998). Они относятся к семейству крестоцветные. Изучение этого феномена проводилось большинством исследователей на дикорастущих видах в условиях природного обогащения почв ТМ. Эти виды перспективны для фиторемедиации территорий, техногенно загрязненных ТМ. Поскольку для целей фиторемедиации виды должны легко культивироваться, иметь высокую скорость роста, наращивать большую биомассу (Karenlampi et al., 2000), мы предприняли попытку поиска таких видов среди видов синантропных флор. Нами изучено 15 представителей сем. *Brassicaceae*, относящихся к разным таксономическим группам. Образцы растений собирали на территории Ботанического Сада БИН РАН и в городских посадках. Содержание Cu, Mn, Ni, Zn, Cd, Pb в разных органах растений и подвижных форм ТМ в почвах определяли атомно-абсорбционным методом. Выявлены межвидовые различия в уровне накопления отдельных элементов. Так, высоким уровнем Zn в листьях (175 - 200 мг/кг) отличались виды *Rorippa palustris*, *Sinapis arvensis*

и *Velarum officinale*. Концентрация Pb в листьях *Arabidopsis thaliana* превышала 50 мг/кг, в то время как у *Thlaspi arvense* из того же местообитания она составляла лишь 4.5 мг/кг. Максимальным содержанием всех определявшихся элементов характеризовался *A. thaliana*. Например, уровень накопления Cu в листьях (16.6 мг/кг) в 5 раз превышал таковой в листьях *Barbarea arcuata*. Обращает на себя внимание способность вида *Capsella bursa-pastoris* накапливать повышенные содержания Cu не только в листьях, но и в корнях, стеблях и соцветиях, что может быть перспективно, учитывая широкое распространение и значительную биомассу этого вида. Среди изученных видов не были найдены концентраторы Ni, содержание его в листьях можно охарактеризовать как фоновое (0.59-2.34 мг/кг), наибольшее содержание у *A. thaliana* – 6.15 мг/кг. У *Br. campestris* значительное содержание Pb найдено как в листьях (7.4), так и в корнях (15.5 мг/кг). Наибольший уровень аккумуляции Pb отмечен в корнях *S. arvensis* и *T. arvense*: 23.4 и 24.8 мг/кг. Для выявления межвидовых различий в интенсивности аккумуляции ТМ рассчитывали КБН, учитывающие содержание подвижных форм ТМ в почве местообитаний. Максимальные величины КБН всех определявшихся ТМ, кроме Mn, найдены у *A. thaliana*. Среди видов родов *Brassica* и *Sinapis* найдены виды, которые при повышенном содержании ТМ в среде резко усиливают накопление ТМ. Например, *Brassica juncea* используется для очистки территорий, загрязненных Pb (Watanabe, 1997). По нашим данным *Br. juncea* отличалась максимальной интенсивностью накопления Ni в корнях. Выделенные нами крестоцветные с усиленной аккумулирующей способностью должны быть исследованы в контролируемых условиях в широком диапазоне содержаний ТМ в питательной среде для оценки перспективности их использования при фиторемедиации.

## **ТРАНСГЕН-ИНДУЦИРОВАННАЯ АКТИВАЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРОГРАММ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ К ЗАСОЛЕНИЮ**

Дьяченко О.В.<sup>1</sup>, Тарлачков С.В.<sup>2</sup>, Шевчук Т.В.<sup>1</sup>, Захарченко Н.С.<sup>1</sup>, Бурьянов Я.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Филиал Учреждения Российской Академии наук Института биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова; пр-т Науки, д.6, 142290 Пущино, Московская область, тел.: (4967)330970, факс: (4967)330527

<sup>2</sup> Пушинский государственный университет; пр-т Науки, д. 5, 142290 Пущино, Московская область

E-mail: [ovdyachenko@fbkh.serpukhov.su](mailto:ovdyachenko@fbkh.serpukhov.su)

В отличие от применяемых сейчас малоэффективных подходов, направленных на изменение только одного из многочисленных звеньев

метаболического защитного ответа растений, имеются новые возможности реализации генетического потенциала защитных ответов растений на абиотические стрессы. Нами предложена стратегия трансген-индуцированной активации генетических программ защиты растений от солевого стресса на модели факультативных галофитных растений *Mesembryanthemum crystallinum*. На основе применения CpG- CpHpG- сайт-специфических ДНК-метилтрансфераз разработана стратегия создания модельных растений с трансген-индуцированной эпигенетической активацией генетических программ защиты от абиотических и биотических стрессов. Разработаны методы регенерации и трансформации растений *Mesembryanthemum crystallinum*. Получена специализированная конструкция, содержащая модифицированный ген метилазы EcoRII под контролем промотора 35S CaMV и ею проведена агробактериальная трансформация растений *M. crystallinum*. У полученных трансгенных растений будет исследована связь между адаптацией растений *M. crystallinum* к солевому стрессу и водному дефициту и гиперметилованием CCWGG-повторяющихся последовательностей в их геноме.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (№09-08-00687).

## **ОТВЕТНЫЕ РЕАКЦИИ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ТАБАКА С ГЕНОМ HMG1 НА БИОТИЧЕСКИЙ СТРЕСС**

Ермошин А.А.\* , Алексеева В.В.\*\* , Синенко О.С.\* , Рукавцова Е.Б.\*\* ,  
Бурьянов Я.И.\*\*

\* Уральский государственный университет им. А.М. Горького; пр. Ленина 51, 520083 Екатеринбург, тел.: (343)2616685

\*\* Филиал Учреждения РАН Института биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова; пр. Науки 6, 142290 Пущино, тел.: (4967)330970

E-mail: ermosh@e1.ru (Ермошину А.А.), lera@fibkh.serpukhov.su (Алексеевой В.В.)

Растения находятся в тесных взаимоотношениях с различными микроорганизмами, в том числе фитопатогенными. При этом у растений может изменяться синтез вторичных метаболитов, таких как фитоалексины, гормоны и стерины мембран. За метаболизм этих соединений отвечает цитоплазматический путь биосинтеза изопреноидов, ключевым геном которого является ген *hmg1*.

В работе использованы трансгенные растения табака *Nicotiana tabacum* L. сорта Самсун, экспрессирующие гетерологичный ген *hmg1*

под контролем конститутивного промотора CaMV 35S (hmg1-растения). Листовые диски растений обрабатывали культурой фитопатогенной бактерии *Pseudomonas syringae* и через 2 сут определяли уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ), активности ферментов супероксиддисмутазы (СОД) и пероксидазы, а также содержание пролина. В результате воздействия патогена уровень ПОЛ в листьях контрольных растений увеличился на 69%, тогда как в листьях hmg1-растений - всего на 6%, свидетельствуя о состоянии сильного окислительного стресса в контрольных растениях. Активность СОД в контрольных листьях снизилась на 40% по сравнению с уровнем СОД в необработанных эксплантах, что указывает на истощение внутренних ресурсов растения, направленных на детоксикацию активных форм кислорода. В листьях трансгенных растений активность этого фермента возросла на 126%. Изменения активности другого важного фермента антиоксидантной защиты – пероксидазы, были не столь заметны (рост на 33% в контроле и на 51% - в hmg1-растениях). Проанализировано содержание пролина, участвующего в стабилизации структуры цитозоля клетки. Уровень пролина после обработки патогенами увеличился на 247% в листьях трансгенных растений и на 58% - в контрольных. В опытах по более длительному воздействию патогена (7 сут) наблюдались различия во внешнем виде трансгенных и контрольных эксплантов – в контроле проявлялись признаки хлороза, тогда как экспланты hmg1-растений сохраняли зелёный цвет. Анализ суммарного содержания стериннов колориметрическим методом обнаружил их увеличение на 43-57% в листьях hmg1-растений по сравнению с контрольными.

По результатам работы можно сделать вывод, что hmg1-растения более устойчивы к заражению исследованным фитопатогеном, что, вероятно, связано с накоплением в них фитоантисипинов изопреноидной природы, изменением содержания изопреноидных фитогормонов или спектра стериннов.

Авторы выражают благодарность к.б.н. доценту И.С. Киселёвой (УрГУ, г. Екатеринбург) за обсуждение результатов.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ № 09-04-00980 и ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» № П2364.

## **КИНЕТИЧЕСКИЕ И ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ $\beta$ -ГЛЮКОЗИДАЗЫ РАСТЕНИЙ ГОРОХА В УСЛОВИЯХ РАЗНЫХ ГАЗОВЫХ СРЕД**

Ершова А.Н., Баркалова О.Н.

Воронежский государственный педагогический университет  
394043, Воронеж, ул. Ленина, 86. тел.: (4732) 533000, факс: (4732) 552727,

E-mail: oks-bar@mail.ru

$\beta$ -Глюкозидаза (КФ 3.2.1.21), катализируя гидролиз  $\beta$ -гликозидной связи в  $\beta$ -D-арил- и олигоглюкопиранозидах, играет важную роль в обменных процессах клетки. В проростках гороха была обнаружена  $\beta$ -глюкозидаза, расщепляющая специфический изосукцинимид- $\beta$ -гликозид (ИС-гликозид), предшественником агликона которого является ГАМК, накапливающаяся в условиях дефицита кислорода. В-Глюкозидазу выделяли из листьев растений гороха (10-14дневных), подвергнутых в темновых условиях 6- или 24-часовому воздействию разных газовых сред: воздух (контроль), гипоксия (азот) и углекислый газ (100%). В работе использовали электрофоретически гомогенные препараты фермента, которые получены из опытных растений после высаливания сульфатом аммония и гель-хроматографии на G-25 и G-100 со степенью очистки 80,6 (аэрация), 75,7 (гипоксия) и 72,7 (CO<sub>2</sub>-среда). При определении субстратной специфичности в качестве субстратов использовали природные (салицин, ИС-гликозид) и синтетические (p-НФГ,  $\alpha$ -метил-D-глюкопиранозид) субстраты (0,5-10 мМ). Активность  $\beta$ -глюкозидазы определяли по количеству освободившейся при гидролизе субстратов глюкозы, а для p-НФГ по количеству отщепившегося p-нитрофенола. Показано, что оптимальное значение pH  $\beta$ -глюкозидазы, выделенной из растений, находящихся в условиях аэрации составляло 5,6, а величины  $pK_1$  и  $pK_2$  были равными 4,4 и 6,8. Для фермента, выделенного из растений, подвергнутых гипоксии, оптимум pH фермента сдвигался на 0,3 единицы в кислую сторону, при этом  $pK_1$  и  $pK_2$  стали равными 4,15 и 6,53 соответственно. В тоже время действие CO<sub>2</sub>-среды на растения существенно не меняло оптимум pH  $\beta$ -глюкозидазы. Проведенные исследования показали, что наряду с этим менялись и кинетические характеристики фермента, выделенных из растений, помещенных в условия дефицита кислорода, такие как  $K_m$  и  $V_{max}$ , а также субстратная специфичность по отношению к различным арилгликозидам. Так, для ИС-гликозида  $K_m$  фермента из аэрируемых растений составляла  $0,58 \pm 0,013$  мМ и практически не менялась, если на растение действовала гипоксия

или  $\text{CO}_2$ -среда. По отношению к  $\alpha$ -метил- $\beta$ -D-гликозиду значение  $K_m$   $\beta$ -глюкозидазы снижалось только при действии углекислого газа. Для салицина величина  $K_m$  изменялась более значительно. Она снижалась с  $1,52 \pm 0,054$  до  $0,90 \pm 0,031$  мМ, если растение находилось в условии гипоксии и до  $0,68 \pm 0,024$  мМ в среде углекислого газа. В тоже время по отношению к p-НФГ значение  $K_m$   $\beta$ -глюкозидазы растений, наоборот, увеличивалось.

Таким образом, показано, что при действии дефицита кислорода меняется не только активность  $\beta$ -глюкозидазы растений гороха, но сдвигается оптимум рН, величины  $pK_1$  и  $pK_2$ , а также изменяется степень сродства фермента к различным арилгликозидам.

## **ВЛИЯНИЕ КИНЕТИНА И ЭПИБРАССИНОЛИДА НА СОДЕРЖАНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ АФК В РАСТЕНИЯХ В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ И $\text{CO}_2$ -СРЕДЫ**

Ершова А.Н., Бердникова О.С.

Воронежский государственный педагогический университет; ул. Ленина 86, 394043 Воронеж, тел.:(4732)533000, факс:(4732)552727

E-mail: [aershova@vspu.ac.ru](mailto:aershova@vspu.ac.ru) (Ершовой А.Н.)

Как известно, в результате сбоя электроно-транспортных цепей в клетках растений образуются разные типы активных форм кислорода (АФК), которые вызывают разрушение биологических мембран, белков и ферментов. Обнаружено (Blokhtina et al., 2003), что у некоторых растений АФК могут накапливаться в условиях дефицита кислорода. Ранее было установлено (Ершова и др., 1991), что кинетин и эпибрасинолид (ЭБ) стабилизируют содержание и жирнокислотный состав фосфолипидов мембран, повышая устойчивость растений к действию стрессоров, включая гипоксию. Исследовали продукцию супероксидного анион-радикала и пероксида водорода у растений гороха и сои в условиях гипоксии и  $\text{CO}_2$ -среды (3, 6, 24 ч), предварительно обработанных кинетином и ЭБ (10 мг/л). Продукцию супероксидного анион-радикала в тканях оценивали по методу (Часов, 2000), пероксида водорода – с использованием пероксидазы, о-дианизидина и рассчитывали на мг белка.

Обнаружено, что через 6 часов действия гипоксии на проростки гороха (слабоустойчивые) содержание супероксида, одной из короткоживущих форм АФК, возросло на 60%, а к концу опыта – почти



в два раза, по отношению к аэрируемым растениям. При действии  $\text{CO}_2$ -среды происходило еще большее накопление супероксида в растениях. При обработке кинетином в клетках проростков гороха, помещенных в условия как гипоксии, так и  $\text{CO}_2$ -среды, содержание супероксида в первые часы опыта оставалось на уровне контроля, а к концу превышало его лишь на 20-30%. Предобработка ЭБ снижала уровень супероксида только в первые 3-6 часов действия как гипоксии, так и  $\text{CO}_2$ -среды. Содержание пероксида водорода, наиболее долгоживущей формы АФК, в растениях гороха при действии гипоксии возрастало в 1.5-2 раза к 24 часам. В условиях  $\text{CO}_2$ -среды это накопление было более значительным (до 400%). Для более устойчивых проростков сои накопление данной формы АФК было менее характерно и наблюдалось только в первые 6 часов опыта. Предобработка кинетином и ЭБ стабилизировала уровень пероксида водорода как в клетках растений сои, так и гороха в условиях дефицита кислорода. Полученные данные позволяют заключить, что одним из возможных механизмов защитного действия кинетина и ЭБ на растения может являться их способность снижать скорость образования разных типов АФК, что предотвращает окислительный распад фосфолипидных компонентов биологических мембран, а, следовательно, повышает устойчивость растений к стрессовым условиям, включая гипоксию.

## **ЛИПОКСИГЕНАЗА И ОБРАЗОВАНИЕ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА У РАСТЕНИЙ ПРИ ДЕЙСТВИИ ГИПОКСИИ $\text{CO}_2$ -СРЕДЫ**

Ершова А.Н., Бердникова О.С.

Кафедра биологии растений Воронежского госпедуниверситета; ул. Ленина 86, 394043 Воронеж, тел.:(47032)533000, факс (47032)552727

E-mail: [aershova@vspu.ac.ru](mailto:aershova@vspu.ac.ru)

Растения на разных этапах своего развития попадают в условия дефицита кислорода (гипоксия), которые сопровождаются повышением в среде концентрации диоксида углерода. Показано (Crawford et al., 1996), что в условиях гипоксии у растений активируются процессы пероксидации липидов, что может быть следствием накопления активных форм кислорода (АФК) или активированием липоксигеназы (Pavelic et al., 2000). Липоксигеназу (LOX) и АФК определяли в тканевых гомогенатах или клеточных компартментах (митохондриях,

хлоропластах или цитоплазме) проростков гороха и сои, помещенных на 3-24 часа в темновых условиях в условия гипоксии или  $\text{CO}_2$ -среду (100%). Содержание пероксида водорода определяли энзиматическим путем, супероксидных анион-радикалов, гидропероксидов и активность LOX – спектрофотометрически.

Обнаружено, что содержание супероксид-аниона и гидропероксидов в тканях неустойчивых проростков гороха при действии гипоксии и среды  $\text{CO}_2$  возрастало до 150-170% от уровня аэрируемых растений. Содержание пероксида водорода, самой долгоживущей формы АФК, в первые часы действия гипоксии возрастало вдвое, а при действии  $\text{CO}_2$ -среды почти в 4 раза. Активность LOX, участвующей в образовании липопероксидов, увеличивалась в первые часы действия гипоксии и  $\text{CO}_2$ -среды на 50-70%. У более устойчивых проростков сои содержание всех типов АФК, так же как и активность LOX, менялось менее значительно в этих условиях.

Установлено, что содержание всех типов АФК постоянно возрастало в митохондриях проростков гороха. В хлоропластах это происходило только в первые часы действия газовых сред. В цитоплазме содержание супероксид-аниона возрастало, а пероксида водорода, наоборот, снижалось. Активность LOX повышалась в митохондриях до 170,1 ФЕ через 3 часа гипоксии, но далее снижалась до 87,9 ФЕ  $\text{mg}^{-1}$  белка, что ниже аэрируемых растений. Она оставалась на уровне контрольных растений в хлоропластах или была ниже на 20% в цитоплазме клеток проростков в течение всего времени гипоксического стресса.  $\text{CO}_2$ -среда влияла на активность LOX подобно гипоксии.

Впервые показано, что в условиях гипоксии у растений активируются процессы образования всех типов АФК, что определяется степенью их устойчивости и активностью LOX. Выявлена динамика накопления АФК в хлоропластах, митохондриях и цитоплазме клеток растений гороха в условиях кратковременной гипоксии. Подтверждено наличие митохондриальной LOX в проростках гороха. Обнаружено, что только митохондриальная LOX может усиливать образование АФК в первые часы действия гипоксии на растения. Для хлоропластной и цитоплазматической форм LOX это не характерно. Отмечено, что высокие концентрации  $\text{CO}_2$  усиливали все эффекты гипоксии на процессы образования АФК и активность LOX растений в различных компартментах.

## **ПОЛУЧЕНИЕ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ СОИ (*Glycine max (L.) Merr.*) ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ К ФИТОПАТОГЕНАМ**

Ефремова О.С.\* , Серенко Е.К.\*\* , Харченко П.Н.\*\* , Чайка А.К.\*

\* ГНУ Приморский НИИСХ Россельхозакадемии; Приморский край, Уссурийский р-он, п. Тимирязевский, 692639 Приморский край, Уссурийский район, ул. Воложенина,30 тел. 8(4234)39-27-19, факс 8(4234)39-24-00

\*\* Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии РАСХН; ул. Тимирязевская 42, 127550 Москва, тел.: (495)9773141, факс: (495)9770947

E-mail: [fe.smc\\_rf@mail.ru](mailto:fe.smc_rf@mail.ru)

Соя – ценнейшая универсальная культура. Важнейшими факторами, ограничивающими рост урожаяев сои, в условиях интенсивного земледелия являются болезни. Поражение патогенными грибами вызывает не только количественное снижение урожая, но и ухудшает его качество.

В настоящее время основным методом борьбы является обработка растений химическими веществами, обладающими фунгицидными свойствами. Конечно, при этом для использования в качестве фунгицидов отбираются только относительно неопасные ядохимикаты, последние, накапливаясь в окружающей среде, тем не менее, наносят ущерб среде обитания. Возникает необходимость поиска иных средств защиты растений от фитопатогенов.

Разработанные в последние годы биотехнологические методы работы с растениями расширили пределы использования нужных для работы генов, контролирующих синтез белка, обладающего антимикробными свойствами. Задача сводится к получению трансгенных растений сои, содержащих в своем геноме ген, который позволит расширить пределы устойчивости растений.

Для генетической трансформации использовали агробактерию, содержащую Ti- плазмиду с антимикробным пептидом, обеспечивающим устойчивость к повреждающему действию и имеющим кодирующую последовательность гена, предающим устойчивость растениям к селективному агенту – канамицину. Объект трансформации- семена сои Приморская 81 и Приморская 28. Для регенерации растений использовались различные типы сред на основе среды Мурасиге-Скуга (MS) а в качестве эксплантов – гипокотили и стебли. Было получено около 140 готовых к трансформации эксплантов. Трансформация эксплантов была проведена по стандартной методике. Отбор трансформантов происходил на селективных средах, содержащих антибиотик канамицин в концентрации 75 мг/л. При селекции на

канамицине было отобрано 58 зеленых растений, способных к образованию корней. Индивидуальные побеги, культивировавшиеся на среде с канамицином проявляли разную степень устойчивости к антибиотику, и неустойчивые побеги со временем меняли окраску и постепенно отмирали. Зеленые растения были подвергнуты проверке посредством ПЦР. В настоящее время ПЦР-анализ показал, что в результате трансформации у растений сои прошедших селекцию на канамицине, произошла интеграция гена в геном растений.

## **РОЛЬ ФЕРРИТИНА В РАСТЕНИЯХ ПРИ ДЕЙСТВИИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА**

Ешинимаева Б.Ц.\*, Шевякова Н.И.\*\* , Кузнецов Вл.В.\*\*

\* Государственный научное учреждение Забайкальский научно-исследовательский институт сельского хозяйства (ГНУ ЗабНИИСХ); Агрогородок «Опытный» 16, 672023 Чита, тел./факс: (3022)39-32-40

\*\* Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая, 35, 127276 Москва, тел.: (499)2318334, факс: (495)9778018

E-mail: [e.beligma@gmail.com](mailto:e.beligma@gmail.com) (Ешинимаевой Б.Ц.)

Изучали зависимость накопления ферритина в листьях галофита *Mesembryanthemum crystallinum* L. от развития окислительного стресса у растений путем моделирования его интенсивности с помощью про-оксиданта параквата (PQ). Установлено, что усиление образования супероксид-радикала и перекиси водорода при обработке листьев PQ повышало экспрессию мРНК генов и содержание белка ферритина, а "тушение" АФК обработкой спермидином подавляло. Впервые установлено, что ферритин, связывая токсичную форму железа в условиях активации в растениях окислительного стресса, препятствует накоплению в клетках  $Fe^{2+}$ -катализатора образования ОН, т.е. выступает как защитный фактор.

Листья взрослых растений в возрасте 8-9 недель после наступления темнового периода обрабатывали раствором PQ (100 мкМ) в Твине-80 (0,05%). После наступления светового периода проводили отбор проб с интервалом в 4 ч. Известно, что PQ, распределяясь в клетке, окисляется на свету в пластидах с образованием супероксид аниона, который дисмутирует в присутствии СОД в перекись водорода, дальнейшим звеном в детоксикации в цепи реакции являются пероксидазы.

Активность СОД в обработанных PQ листьях увеличивалась к 8 ч экспозиции, что соответствовало максимуму экспрессии генов ферритина. В последующем активность СОД снижалась и стабилизировалась после 12 ч, но на более высоком по сравнению с контролем уровне. Активность свободной пероксидазы увеличивалась к 12 часам действия света, а затем выходила на плато, но сохраняя более высокий уровень по сравнению с контролем. Эти данные демонстрировали динамику продуцирования паракватом  $O_2^-$  и  $H_2O_2$ , которая совпадает с динамикой активации экспрессии генов. Содержание белка ферритина увеличивалось после 8 ч экспозиции, достигая максимума к концу эксперимента к 48 ч.

Таким образом, при действии параквата, повышающего в клетках уровень окислительный стресса, наблюдалась ответная реакция не только антиоксидантной системы защиты клеток, но и в итоге к усиленному синтезу мРНК и увеличению содержания ферритина в листьях. Это свидетельствует о прямой связи этих процессов и можно предположить, что ферритин является не только запасной формой железа в клетках, но и его роль в детоксикации восстановленного железа очевидна.

Работа поддержана РФФИ грантом 10-04-00799-а и Программой Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология».

## **РАННИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СОДЕРЖАНИИ $H_2O_2$ И АКТИВНОСТИ ПЕРОКСИРЕДОКСИНА И ТИОРЕДОКСИНА В КЛЕТКАХ КУЛЬТУРЫ ТКАНИ АРАБИДОПСИСА ПРИ ОСМОТИЧЕСКОМ СТРЕССЕ РАЗЛИЧНОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ**

Жадько С.И.

Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАНУ; ул. Терещенковская 2, 01601 Киев, Украина, тел.: (38044)2723236, факс.: (38044)2723236

E-mail: [sjadko@hotmail.com](mailto:sjadko@hotmail.com) (Жадько С.И.)

Важное значение в реакции растений на действия различных стрессов принадлежит активным формам кислорода (АФК), включая  $H_2O_2$ , пероксиредоксинам (ПР) и тиоредоксинам (ТР). При этом АФК могут выполнять как сигнальную, так и окислительно-деструктивную функцию. Ранее нами было установлено, что при действии высоких доз окислительного стресса в клетках растений происходит раннее высокоамплитудное увеличение содержания АФК/ $H_2O_2$ , за которым следует АФК-зависимое увеличение активности ПР и ТР. Однако как изменяются эти параметры при низких дозах осмотического стресса

неизвестно. Исследовали 12-дневную каллусную культуру ткани арабидопсиса *A. thaliana*, экотип Columbia, полученную из листьев проростков. Культуру выращивали на среде Мурасиге и Скуга в темноте при 24°C. Осмотический стресс вызывали посредством действия 10% и 25% полиэтиленгликоля 6000 (ПЭГ). Через 30, 60, 90, 180 и 240 мин воздействия определяли содержание  $H_2O_2$ , активность ПР и ТР. Содержание белка определяли по методу Брэдфорд. Повторность экспериментов 3-4 кратная. Полученные данные обрабатывали статистически. При действии 10% ПЭГ в клетках культуры ткани происходило относительно медленное увеличение содержания  $H_2O_2$  и активности ПР и ТР и к 30, 60, 90, 180 и 240 мин эти показатели были выше соответствующих контролей в среднем на 5, 7, 10, 12 и 15%. Однако при действии 25% ПЭГ происходило раннее и более значительное увеличение содержания  $H_2O_2$  и к 30 мин воздействия оно было выше контролей на 23%, затем оно медленно снижалось и к 240 мин все еще было выше контролей на 19%. За ранним и высокоамплитудным увеличением содержания  $H_2O_2$  происходило достоверное увеличение активности ПР и ТР к 60 мин в среднем на 17% и в дальнейшем до 240 мин, эти параметры оставались приблизительно на таком же уровне. Таким образом, при осмотическом стрессе относительно малой интенсивности (10% ПЭГ) в клетках культуры ткани арабидопсиса в первые минуты и часы воздействия происходит медленное увеличение содержания  $H_2O_2$  и активности ПР и ТР. Однако при увеличении дозы воздействия (25% ПЭГ), происходит раннее и высокоамплитудное увеличение содержания  $H_2O_2$  в процессе развития стрессорной оксидативной вспышки, за которым следует АФК-зависимое увеличение активности ПР и ТР.

## **ВОЗМОЖНАЯ РОЛЬ Rab7 ГТФазы В МЕХАНИЗМАХ АДАПТАЦИИ КЛЕТОК ГАЛОФИТА *Thellungiella salsuginea* В УСЛОВИЯХ ЗАСОЛЕНИЯ**

Жамалетдинов Н.К.\*, Высоцкий Д.А.\*\*\*, Куркова Е.Б.\*, Халилова Л.А.\*,  
Балнокин Ю.В.\*, Бабаков А.В.\*\*

\*Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая, 35,  
127276 Москва, тел.: (495) 9779218, факс: (495)9778018

\*\*ГНУ ВНИИ Сельскохозяйственной биотехнологии РАСХН; ул. Тимирязевская, 42,  
127550 Москва, тел.: (495)9770938, факс: (495)9770947

E-mail: [nail1983@mail.ru](mailto:nail1983@mail.ru) (Жамалетдинову Н.К.)

Активирование процесса эндоцитоза при солевом стрессе (Балнокин и др., 2007) может служить одним из механизмов солеустойчивости

растений. Для эндоцитоза требуется доставка и встраивание мембранного материала в тонопласт. В этом процессе активное участие принимают Rab-белки. Rab-белки – суперсемейство GTPаз с небольшим молекулярным весом, вовлеченные в ранний и поздний эндоцитоз. Семейство Rab-белков включает в себя около 60 членов. Белки этого семейства участвуют во внутриклеточном транспорте везикул. Целью настоящей работы являлось изучение молекулярных механизмов везикулярного транспорта с участием белка Rab7. В качестве объекта исследований использовали новое модельное растение *Thellungiella salsuginea*. Это растение является близкородственным *Arabidopsis*, но проявляет значительно большую устойчивость к засолению почвы. Основываясь на участках нуклеотидных последовательностей Rab-белков *Arabidopsis*, нами сконструированы праймеры для амплификации центрального фрагмента гомологичного белка у *Th. salsuginea*. Используя подобранные праймеры, произведена амплификация центральной области кДНК, кодирующей Rab7 в *Th. salsuginea*. Полученная последовательность была клонирована с использованием pGEM-T вектора и штамма бактерии *E. coli* DH5 $\alpha$  и секвенирована. Методом RACE-ПЦР установлены последовательности нетранслируемых областей Rab7. Анализ экспрессии Rab7 методом ПЦР в реальном времени выявил тенденцию к небольшой индукции в ответ на солевой стресс. Увеличение экспрессии этого гена предполагает способность клеток *Th. salsuginea* адаптироваться к стрессовым условиям посредством активации везикулярного транспорта. Электронно-микроскопическое исследование показало, что клетки листьев *Th. salsuginea* в условиях засоления формируют в цитоплазме микровакуоли в отличие от контрольных растений. Возможно, таким способом из цитоплазмы клеток *Th. salsuginea* выводятся образующиеся в условиях засоления токсические вещества.

В настоящее время ведутся работы по созданию генетических конструкций для проведения эксперимента по РНК интерференции Rab7. Также планируется провести физиологические эксперименты с трансгенными растениями со сверхэкспрессией Rab7.

Работа поддержана грантом РФФИ № 09-04-00709-а

## **МЕЛАМИНОВАЯ СОЛЬ БИС(ОКСИМЕТИЛ)-ФОСФИНОВОЙ КИСЛОТЫ ПРЕДОТВРАЩАЕТ ИЗМЕНЕНИЯ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА МЕМБРАН МИТОХОНДРИЙ ГОРОХА В УСЛОВИЯХ НЕДОСТАТОЧНОГО УВЛАЖНЕНИЯ**

Жигачева И.В.\*, Мишарина Т.А\*, Теренина М.Б.\*,, Крикунова Н.Н\*,  
Бурлакова Е.Б.\*, Генерозова И.П.\*\*, Шугаев А.Г.\*\*., Фаттахов С.Г.\*\*

\* Институт биохимической физики им. Н.М. Эммануэля РАН; ул. Косыгина, 4, 119334 Москва, факс: (499)1374101

\*\* Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая, 35, 127276 Москва, тел: (499)2318340, факс: (495)9778018

\*\*\*Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова РАН Казанского Научного центра, ул. Ак. Арбузова, 8, 420088 Казань, факс (8432)731872

E-mail: [zhigacheva@mail.ru](mailto:zhigacheva@mail.ru) (Жигачевой И.В.)

Клеточные мембраны – это одно из основных мест, где происходит повреждение клетки при водном дефиците. Водный дефицит модифицирует клеточные мембраны и мембраны органелл, влияя на их функции и метаболизм клетки. В условиях водного дефицита снижается функциональная активность как хлоропластов, так и митохондрий. Поскольку регуляторы роста растений, к которым относится и меламинавая соль бис(оксиметил)-фосфиновой кислоты (Мелафен), повышают устойчивость растений к стрессовым воздействиям, представляло интерес выяснить, окажет ли предпосевная обработка семян этим препаратом защитный эффект в условиях недостаточного увлажнения. Исследования проводили на митохондриях, выделенных из проростков гороха (*Pisum sativum*), получаемых в стандартных условиях и в условиях недостаточного увлажнения. Водный дефицит в 1,6 раза снижал соотношение ненасыщенных жирных кислот с 18 углеродными атомами к насыщенным и в 3,3 раза уменьшал это соотношение для кислот с 20 углеродными атомами. Изменение жирнокислотного состава отражалось на энергетике митохондрий: снижались максимальные скорости окисления NAD-зависимых субстратов, скорости транспорта электронов на конечном участке дыхательной цепи и эффективность окислительного фосфорилирования. Замачивание семян в  $3 \times 10^{-9}$  М растворе Мелафена предотвращало изменения в энергетике митохондрий, обусловленные недостатком воды. Изменения в функциональном состоянии митохондрий, по-видимому, были связаны с модификацией липидного состава мембран этих органелл, так как обработка Мелафеном предупреждала изменения в жирнокислотном составе мембран митохондрий проростков гороха, находящихся в условиях недостаточного увлажнения.



## **ВИДОСПЕЦИФИЧНОСТЬ РЕАКЦИИ СИМБИОТИЧЕСКОГО АППАРАТА БОБОВЫХ РАСТЕНИЙ НА СТРЕССОВЫЕ УСЛОВИЯ, ВЫЗВАННЫЕ ИЗБЫТКОМ КАДМИЯ В СРЕДЕ**

Заболотный А.И.\*, Будкевич Т.А.\* , Радюк М.С.\*\* , Бажанов Д.П.\*\*\*

\* Институт экспериментальной ботаники им.В.Ф.Купревича НАН Беларуси:  
ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Беларусь, тел.: +375 (17) 2842050,  
факс: +375 (17) 2841853

\*\* Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси,  
ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Беларусь, тел.: +375 (17) 2842356

\*\*\*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, ул.Академическая, 27, 220072,  
Минск, Беларусь, тел.: +375 (17) 2841905

E-mail: [recology@biobel.bas-net.by](mailto:recology@biobel.bas-net.by) (Заболотному А.И.)

В вегетационных опытах изучали влияние различных концентраций кадмия в почве на развитие азотфиксирующих клубеньков у бобовых культур – люпина узколистного (*Lupinus angustifolius* L.), гороха посевного (*Pisum sativum* L.), люцерны посевной (*Medicago sativa* L.), лядвенца рогатого (*Lotus corniculatus* L.). Анализы проводили в фазу цветения. С увеличением содержания кадмия в почве на корнях гороха масса клубеньков увеличивалась за счет их укрупнения, у люпина размеры клубеньков уменьшались без изменения их массы, у люцерны возрастало количество клубеньков, у лядвенца снижались как количество клубеньков на растении, так и их масса. Самым чувствительным к кадмию оказался лядвенец – при повышении содержания кадмия в почве до 5 мг/кг масса растений снижалась, заметно падала азотфиксирующая активность клубеньков, что не отмечено у других исследуемых видов, активность азотфиксации у которых была устойчива при 15-30 мг/кг Cd в почве. Наиболее активно накапливали кадмий клубеньки люцерны. При концентрации Cd в почве 0,3-0,5 мг/кг содержание в них кадмия составляло  $0,31 \pm 0,02$  мг/кг сухой массы клубеньков, при 15 мг/кг Cd в почве –  $12,68 \pm 1,38$  мг/кг. В то же время в клубеньках гороха этих вариантов накапливалось соответственно  $0,36 \pm 0,03$  и  $6,44 \pm 0,16$  мг/кг Cd. На этом же уровне зафиксировано содержание Cd в клубеньках люпина. Избыточная концентрация кадмия в почве и аккумуляция его в клубеньках являются для симбиотической системы стресс-фактором, вызывающим генерацию активных форм кислорода и изменение активности ферментов, участвующих в их трансформации – супероксиддисмутазы, а также каталазы и аскорбатпероксидазы. В наших опытах снижение активности этих ферментов в азотфиксирующих клубеньках в фазе цветения растений по мере повышения концентрации

кадмия в почве свидетельствовало об ослаблении защитной функции клубеньков от воздействия неблагоприятного фактора, которое проявлялось видоспецифично в зависимости от концентрации кадмия в почве. У лядвенца избыточные для этой культуры концентрации кадмия в среде (5 и выше мг/кг) тормозили транспорт азота из корней в надземные органы.

Работа поддержана грантом РФФИ-БРФФИ №Б08Р-070 (2008-2010 гг.)

## **ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ БРАССИНОСТЕРОИДОВ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ ЛЬНА В УСЛОВИЯХ БИОГЕННЫХ И АБИОГЕННЫХ СТРЕССОВ**

Завадская М.И.\*, Кукреш С.П.\*\*, Чашина Н.М.\*, Ходянков А.А.\*, Хрипач В.А.\*

\* Институт биоорганической химии НАН Беларуси; ул. Купревича 5/2, 22141  
Минск, Беларусь. Тел./факс (375 17)2678647

\*\* Белорусская государственная сельскохозяйственная академия,  
пр. Интернациональный, 30, 213410, г. Горки, Могилевская обл.

E-mail: [khripach@iboch.bas-net.by](mailto:khripach@iboch.bas-net.by) (Хрипачу В.А)

Ранее нами было показано, что препараты Эпин и Эпин-плюс, действующим веществом которых являются фитогормоны класса брассиностероидов (эпи- и гомо-брассинолид), оказывают ростстимулирующее действие на многие сельскохозяйственные культуры, в том числе на лен-долгунец. Так, опрыскивание растений льна в фазе начала бутонизации способствует повышению выхода семян, льноволокна и улучшению качества последнего (длина, гибкость, прочность, номер).

В данной работе установлено, что увеличение урожайности и улучшение качества продукции обусловлено также выраженным антистрессовым (адаптогенным) действием названных препаратов, повышающих устойчивость растений льна в неблагоприятных условиях окружающей среды, таких как засуха и болезни.

Для борьбы с засухой оптимальным вариантом применения является сочетание предпосевной обработки семян льна и опрыскивания растений в фазе «елочки» рабочим раствором одного из препаратов перед засухой и при возобновлении полива. При этом значительно повышается оводненность листьев, что способствует восстановлению тургора листьев, общее содержание воды (% от сырой массы) возрастает

до 64-67 % в сравнении с контролем, предотвращается гибель растений и обеспечивается их дальнейшее развитие, возможно за счет лучшего развития корневой системы.

Известно, что ведение интенсивного земледелия невозможно без применения минеральных удобрений, что может приводить и к отрицательным последствиям, например, к увеличению полегаемости посевов по сравнению с вариантом без удобрений. Применение препаратов Эпин и Эпин-плюс даже при одной обработке снижает полегаемость посевов льна-долгунца на минеральном фоне за счет увеличения толщины и прочности стебля.

Повышение устойчивости к болезням показано на примере одного из распространенных заболеваний растений льна - кальциевого хлороза, возникающего на фоне известкования почвы. Потери от кальциевого хлороза могут достигать 30-40 % возможного урожая, а на легких почвах и более. На обработанных препаратами Эпин или Эпин-плюс растениях поражаемость последних как без удобрений, так и на минеральном фоне снижается в 5-7 раз.

Процесс применения препаратов технологичен, так как обработку ими семян возможно совместить с обработкой одним из протравителей, а опрыскивание растений раствором препаратов на основе брассиностероидов можно совместить с обработкой растений другими агрохимикатами, применяемыми на льне в фазе «елочки», при условии их нещелочной реакции.

## **КАПЛИ ВЛАГИ НА ЛИСТЬЯХ КАК ФАКТОР УСТОЙЧИВОСТИ К ИНФЕКЦИЯМ**

Захаренкова Т.С.\*, Аверьянов А.А.\* , Пасечник Т.Д.\* , Лапикова В.П.\* , Baker С. J.\*\*

\* Всероссийский научноисследовательский институт фитопатологии  
Российской академии сельскохозяйственных наук; 143050, Большие Вязёмы,  
Московская обл., тел.: 8-(495)-992-92-63, факс: 8-(498)-694-11-24

\*\* Molecular Plant Pathology Laboratory, Agriculture Research Service, United States  
Department of Agriculture, Beltsville, Maryland, 20705 USA

E-mail: [romtatyana@mail.ru](mailto:romtatyana@mail.ru) (Захаренковой Т.С.),

Капли росы или дождя на надземных частях растений способствуют их заражению бактериальными и грибными болезнями. Однако, не исключено, что растение адаптивно отвечает на этот фактор повышением болезнеустойчивости. Мы это проверили на примере оливковой пятнистости огурца (возбудитель – гриб *Cladosporium cucumerinum*) и

пирикулярноза риса (*Magnaphorpha grisea*). Капли воды инкубировали 24 ч на первом листе огурца. Тот же лист сразу после обработки заражали суспензией спор *S. cucumerinum*. В других вариантах заражали второй или третий лист, соответственно, через семь или 12 дней после обработки первого или первый лист через семь дней после обработки семядолей. Во всех случаях симптомы болезни проявлялись слабее, по сравнению с необработанным контролем. Следовательно, капли воды стимулировали локальную и системную устойчивость огурца. На растениях риса однодневная инкубация капель воды на четвертом листе перед его заражением спорами *M. grisea* тоже сдерживала развитие болезни. Так же действовало опрыскивание листа или выпадение конденсата из влажного воздуха. Следовательно, поверхностное увлажнение листьев небольшим объемом воды способствует локальной болезнестойчивости риса. Мы предполагаем, что вода при сравнительно долгом взаимодействии с клеточными стенками растений освобождает из них эндогенные элиситоры, которые индуцируют защитные реакции. Последние, возможно, связаны с активными формами кислорода. Действительно, обнаружена стимуляция образования супероксидного радикала листьями риса после однодневной обработки каплями воды. Таким образом, повышенное увлажнение, повышающее риск инфекции, одновременно может индуцировать болезнестойчивость, в механизме которой могут участвовать активные формы кислорода.

## **ИССЛЕДОВАНИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ КОЛОНИЗАЦИИ РАСТЕНИЙ АССОЦИАТИВНЫМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ НА МОРФОГЕНЕЗ И УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ К БИОТИЧЕСКИМ И АБИОТИЧЕСКИМ СТРЕССОВЫМ ФАКТОРАМ**

Захарченко Н.С.\*, Лебедева А.А.\*, Пиголева С.В.\*, Захарченко А.В.\*\*,  
Бурьянов Я.И.\*

\* Филиал Учреждения Российской академии наук Института биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН; пр-т Науки, 6, 142290 Пущино, тел.: (4967)330970, факс:8(4967)330527

\*\* Филиал Московского государственного университета им. М.В.Ломоносова; г. Пущино, пр-т Науки, 2, тел.: (4967)732619.

E-mail: [zahar@fbkh.serpukhov.su](mailto:zahar@fbkh.serpukhov.su) (Захарченко Н.С.)

Повышение устойчивости к различным стрессовым факторам внешней среды является важной проблемой современной физиологии

растений. Защита от фитопатогенов достигается различными подходами: путем прямой селекции, применением химических средств защиты растений, применением генно-инженерных технологий, использованием микробиологических средств. С учетом биологической безопасности, применение последней стратегии представляется наиболее перспективной с учетом ее усовершенствования. Наша работа посвящена исследованию физиологических эффектов колонизации растений ассоциативными микроорганизмами на морфогенез и устойчивость растений к биотическим и абиотическим стрессовым факторам. В природных условиях растения существуют в тесной ассоциации с комплексом различных микроорганизмов, которые оказывают стимулирующее влияние на рост и развитие растений за счет способности к азотификации, продуцированию физиологически активных веществ, мобилизации питательных элементов из почвы, подавлению роста фитопатогенов, детоксикации чужеродных химических соединений. Список микроорганизмов, положительно влияющих на рост растений и их устойчивость к биотическим и абиотическим стрессовым факторам невелик и расширение этого списка перспективной научно-исследовательской задачей.

Целью нашей работы было исследование взаимодействия с растениями рапса, табака и томатов бактерий *Pseudomonas aureofaciens* ВКМ В-2188, *Pseudomonas aureofaciens* (RFP), *Pseudomonas* КТ 2442::GFP, *Methylovorus mays* ВКМ В-2221. Микробиологическими и микроскопическими методами с помощью флуоресцентных белков показана стабильная ассоциация растений с микроорганизмами. Колонизованные растения отличались ускоренным ростом, лучшим укоренением и адаптацией к условиям *in vivo*, а также проявляли повышенную устойчивость к фитопатогенам по сравнению с неколонизованными растениями. Колонизация растений метиловыми бактериями положительно влияет на нейтрализацию ксенобиотика 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты, используемой в качестве гербицида.

Полученные результаты по колонизации растений ассоциативными микроорганизмами в сочетании с методом микроклонального размножения можно использовать для разработки методов защиты растений от биотических и абиотических стрессовых факторов.

Работа поддержана грантами РФФИ № 08-08-00406, №10-04-00037

## ЭФФЕКТЫ ТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ СРЕДЫ РТУТЬЮ НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ АППАРАТ *Chamaenerion angustifolium*

Захожий И.Г., Далькэ И.В., Головки Т.К.

Институт биологии Коми НЦ УрО РАН; ул. Коммунистическая 28, 167982  
Сыктывкар, тел.: (8212)249687, факс: (8212)240163

E-mail: [zakhozhiy@ib.komisc.ru](mailto:zakhozhiy@ib.komisc.ru), [dalke@ib.komisc.ru](mailto:dalke@ib.komisc.ru), [golovko@ib.komisc.ru](mailto:golovko@ib.komisc.ru)

Ртуть, наряду с кадмием и свинцом, является одним из самых токсичных металлов. Однако сведений о ее накоплении в растениях и влиянии на процессы жизнедеятельности, особенно фотосинтез, существенно меньше. Представлены данные о влиянии хронического ртутного загрязнения почвы на фотосинтетический аппарат (ФА) бореального циркумполярного вида *Chamaenerion angustifolium* (иван-чай узколистный) сем. Кипрейные. Растения произрастали на отвалах золотообогатительного цеха в подзоне крайне-северной тайги (Приполярный Урал). Листья для анализа пигментов отбирали в начале цветения растений. Параллельно измеряли параметры индуцированной флуоресценции хлорофилла с помощью флуориметра РАМ-2100 (Walz, Германия). Скорость  $\text{CO}_2$ -газообмена определяли портативным ИК-газоанализатором LCP+ (ADC, Великобритания). Содержание ртути в почве и ее накопление в органах растений оценивали с помощью атомно-абсорбционного метода на спектрометре РА-915+ с приставкой ПИРО-915 (Люмекс, Россия). Содержание ртути в почве техногенно загрязненных площадок было на 1-2 порядка выше по сравнению с фоновым (контрольным) участком, где концентрация Hg в корнеобитаемом слое почвы составляла около 0.1 мг/кг (ПДК ртути в почве 2.1 мг/кг). С увеличением степени загрязнения почвы концентрация Hg в подземной части растений возрастала на 2-3 порядка, тогда как в надземных органах повышалась в 2-5 раз. Эти данные, с одной стороны, свидетельствуют о выраженной барьерной функции корней, с другой, могут отражать способность надземных органов (листьев) к метаболизации ртути и превращению ее в летучие формы. Ртуть не оказала заметного действия на содержание и соотношение фотосинтетических пигментов в листьях. Вместе с тем, на сильно загрязненных участках отмечена тенденция к увеличению концентрации Хл а и каротиноидов. Не выявлено также существенного влияния Hg на величину максимального квантового выхода фотохимии ФС II (Fv/Fm) и скорость транспорта электронов. Однако присутствие Hg в среде вызывало подавление скорости  $\text{CO}_2$ -газообмена листьев. При насыщающей ФАР скорость видимого поглощения  $\text{CO}_2$  у растений контрольного участка составляла около 15 мкмоль/м<sup>2</sup>с, на

загрязненных площадках была в 3-6 раз ниже. На наш взгляд, снижение фотосинтеза может быть связано с инактивацией ферментов углеродного метаболизма и/или нарушением снабжения клеток водой и минеральными элементами.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ (07-04-00436) и программы Президиума РАН «Биологическое разнообразие» (проект: Биологическое разнообразие наземных и водных экосистем Приполярного Урала: механизмы формирования, современное состояние, прогноз естественной и антропогенной динамики). Авторы признательны А.Н. Низовцеву за помощь в определении ртути в образцах.

### **ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ АППАРАТ ГАЛОТОЛЕРАНТНОЙ ВОДОРОСЛИ *Dunaliella maritima* (Massjuk) В УСЛОВИЯХ ГИПЕРОСМОТИЧЕСКОГО СОЛЕВОГО ШОКА**

Захожий И.Г.\*, Маталин Д.А.\*\* , Попова Л.Г.\*\* , Балнокин Ю.В.\*\*

\* Институт биологии Коми НЦ УрО РАН; ул. Коммунистическая 28, ГСП-2, 167982 Сыктывкар, тел.: (8212) 249687, факс: (8212)240163

\*\* Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева РАН; ул. Ботаническая 35, 127276 Москва, тел.: (495) 9779218, факс: (495) 9778018

E-mail: lora\_gp@mail.ru (Поповой Л.Г.)

Для оценки функционального состояния фотосинтетического аппарата клеток галотолерантной монадной водоросли *D. maritima* (отд. Chlorophyta) в условиях гиперосмотического солевого шока различной интенсивности был использован метод регистрации индуцированной флуоресценции хлорофилла (Хл). Шок создавали, перенося клетки водоросли, растущей в среде с 0,5 М NaCl, на среды с более высокими концентрациями NaCl (1,0 М/1,5 М/2,5 М NaCl). С помощью специализированного флуориметра «РАМ 2100» измеряли параметры индуцированной флуоресценции Хл (Fo, Fm, Fm', Fo', Ft). Определяли также скорость фотосинтетического выделения O<sub>2</sub> клетками водоросли, внутриклеточные концентрации Na<sup>+</sup> и глицерина (основной осмолит у данного организма). Результаты проведенных экспериментов свидетельствуют, что гиперосмотический солевой шок приводит к снижению функциональной активности фотосинтетического аппарата *D. maritima*, наблюдаемому непосредственно после шокового воздействия, о чем свидетельствует, в частности, уменьшение значений показателя (Fm-Fo)/Fm = Fv/Fm. Однако в условиях умеренного солевого

шока (1М NaCl) фотосинтетический аппарат *D.maritima* сохраняет способность эффективно осуществлять первичное разделение зарядов в ФС II, поскольку в этом варианте все измеренные параметры флуоресценции изменялись незначительно и достаточно быстро релаксировали к исходному уровню. Иная картина наблюдалась для клеток, подвергнутых более сильному шоковому воздействию (1,5 М NaCl и 2,5 М NaCl). В варианте 1,5 М NaCl существенные нарушения ионного и осмотического гомеостаза в клетках *D. maritima*, а также более длительный период синтеза глицерина, необходимого для восстановления осмотического баланса, обусловили более длительную релаксацию параметров флуоресценции Хл. В варианте 2,5 М NaCl наблюдались необратимые изменения параметров флуоресценции Хл, что, безусловно, связано с необратимыми нарушениями ионного и осмотического гомеостаза в клетках *D. maritima* в этих условиях. Динамика изменений скорости фотосинтетического выделения кислорода клетками *D. maritima* в условиях гиперосмотического солевого шока аналогична динамике изменений параметра Fv/Fm. В целом, результаты работы демонстрируют, что изменения параметров индуцированной флуоресценции хлорофилла *D. maritima* при стрессовом воздействии находятся в зависимости от силы стрессового воздействия и коррелируют с возможностями данного организма восстанавливать внутриклеточный ионный гомеостаз.

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований, грант № 10-04-01456-а.

## **УЧАСТИЕ СЕРИН-ТРЕОНИНОВЫХ ПРОТЕИНКИНАЗ В ФОСФОРИЛОВАНИИ ШАПЕРОНИНА GroES ПРИ ТЕПЛОВОМ СТРЕССЕ У ЦИАНОБАКТЕРИИ *Synechocystis* sp. PCC 6803**

Зорина А.А.<sup>1</sup>, Степанченко Н.С.<sup>1</sup>, Синетова М.А.<sup>1</sup>, Паничкин В.В.<sup>1</sup>, Новикова Г.В.<sup>1</sup>, Мошков И.Е.<sup>1</sup>, Зинченко В.В.<sup>2</sup>, Шестаков С.В.<sup>2</sup>, Лось Д.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая 35, 127276 Москва, тел.:(499)2318334, факс:(495)9778018

<sup>2</sup> Кафедра генетики, Биологический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова; Ленинские горы, д. 1, стр. 12, 119991 Москва

E-mail: [zorina.anna@yahoo.com](mailto:zorina.anna@yahoo.com) (Зориной А.А.)

Основными компонентами в системе передачи сигналов в клетке эукариот являются серин-треониновые протеинкиназы (СТПК). Анализ



последовательностей геномов прокариот выявил наличие подобных ферментов также у этой группы организмов, и в частности у цианобактерий. Однако до настоящего времени роль данных сигнальных элементов остается слабо изученной. В настоящей работе была предпринята попытка определить роль СТПК в ответ на тепловой стресс у цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803. Работа проводилась с коллекцией мутантов, полученных методом инсерционного мутагенеза. Важным моментом при изучении функций СТПК в клетке является определение их субстратов. Мы провели реакцию фосфорилирования *in vitro* и последующую идентификацию фосфопротеинов, это позволило определить ряд белков (метионил-т-РНК-синтетаза, большая субъединица РБФК, 6-фосфоглюконат-дегидрогеназа, фактор элонгации трансляции Tu, белок теплового шока GrpE и шаперонин GroES), являющихся вероятными мишенями фосфорилирования по серину и треонину. Экспрессированный и очищенный белок GroES был использован в качестве экзогенного субстрата для изучения протеинкиназной активности белковых экстрактов индивидуальных мутантов. В результате установлено, что мутанты по протеинкиназам SpkC, SpkF и SpkK не способны фосфорилировать GroES *in vitro*. Полученные данные указывают на существование между этими протеинкиназами определенных взаимодействий в отношении общего для них субстрата, а также на их участие в поддержании функционирования шаперонина GroESL как в условиях теплового стресса, так и при оптимальной для роста температуре.

## **ВЛИЯНИЕ МЕЛАФЕНА НА РАЗВИТИЕ ПРОРОСТКОВ ЯЧМЕНЯ ПРИ СОЛЕВОМ СТРЕССЕ**

Зубкова Н.К.\* , Фаттахов С.Г.\*\* , Холодова В.П.\* , Кузнецов В.В.\*

\* Учреждение Российской академии наук Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая, 35, 127276 Москва, тел.: (499)2318344, факс: (495)9778018

\*\* Учреждение Российской академии наук Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН; 420088, г. Казань, ул. Арбузова, 8, тел. (843)2721708

E-mail: [vkusnetsov2001@rambler.ru](mailto:vkusnetsov2001@rambler.ru)

К настоящему времени получено достаточно много результатов, показывающих, что мелафен – меламинавая соль бис(оксиметил)-фосфиновой кислоты, регулятор роста нового поколения,

синтезированный химиками-органиками КазНЦ РАН, в крайне низких концентрациях значительно повышает урожайность многих сельскохозяйственных культур, особенно в неблагоприятных условиях произрастания. В связи с этим представляло большой интерес изучение влияния мелафена на рост растений при воздействии, например, солевого стресса. Работа выполнена на проростках ячменя сорта «Луч». Изучен эффект на прорастание семян, длину корня, вес корня и размер coleoptilya. На основании результатов предварительных опытов мелафен был взят в концентрациях  $10^{-9}$ - $10^{-6}$ М. Изучали эффект хлористого натрия в концентрациях 25, 50, 100, 200 и 300 мМ. Применили две разные постановки экспериментов. При первой постановке сухие семена ячменя раскладывали на фильтровальную бумагу в чашки Петри и наливали в них по 20 мл воды, NaCl, мелафена или по 10 мл NaCl и мелафена. Опыты проводились в темноте при 23°C. Все измерения производили у 3-дневных проростков. При второй постановке эксперимента обработку семян мелафеном делали согласно рекомендациям авторов препарата. Семена предварительно замачивали в воде или растворе мелафена в течение 1.5 час. После замачивания семена обсушивали фильтровальной бумагой и раскладывали в чашки Петри, в которые наливали по 20 мл воды (варианты: контроль и мелафен), NaCl (варианты: NaCl и мелафен+ NaCl) в зависимости от того, предварительно замачивали семена в воде или растворе мелафена. Через 3 суток выращивания в таких же условиях, как и в первом опыте, проводили измерения всех показателей роста.

В обеих постановках опыта хлористый натрий в концентрациях 25 и 50 мМ активировал все изучаемые показатели роста. При 100 мМ NaCl обычно наблюдалось незначительное подавление, а при 200 мМ был сильный ингибирующий эффект особенно на рост корня. Один мелафен ( $10^{-9}$ - $10^{-6}$ М) не оказывал существенного активирующего действия на рост проростков ячменя. Не получено достоверного снижения негативного эффекта высоких концентраций хлористого натрия ни при предобработке проростков мелафеном, ни при совместном действии со стрессором.

Таким образом, в наших экспериментах не было обнаружено защитного эффекта мелафена на рост проростков ячменя в условиях солевого стресса. Однако это совсем не исключает, что в других условиях, с растениями другого возраста ячменя или других культур защитный эффект мелафена при воздействии высоких концентраций соли может быть обнаружен.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ №10-04-00594, 10-04-90052

## **АКТИВНОСТЬ ГИДРОЛАЗ И ИХ БЕЛКОВЫХ ИНГИБИТОРОВ В КАЛЛУСАХ КАРТОФЕЛЯ ПРИ ЗАРАЖЕНИИ ФИТОФТОРОЙ И ОБРАБОТКЕ ИНДУКТОРАМИ УСТОЙЧИВОСТИ**

Ибрагимов Р.И\*., Яруллина Л.Г.\*\*, Сурина О.Б.\*\*, Шпирная И.А.\*

\* Башкирский государственный университет; ул. З. Валиди 32, 450074, Уфа, тел.: (495)273-67-12, факс:(347)2736778

\*\* Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН; проспект Октября, 71, 450057, Уфа; тел/факс (347)2356088

E-mail: *i-shia@yandex.ru*

Одним из факторов агрессивности и патогенности микроорганизмов и насекомых – фитофагов являются гидролитические ферменты. Работы последних лет свидетельствуют, что важной составляющей защитного ответа растений является образование белковых ингибиторов. Исследование процессов, происходящих в растительных клетках при обработке естественными индукторами устойчивости на фоне заражения патогенными микроорганизмами, представляет несомненный практический интерес.

Исследовали активность гидролаз и их ингибиторов в каллусах картофеля при заражении фитофторой и воздействии салициловой (СК) и жасмоновой (ЖК) кислотами. В качестве эксплантов для получения каллусов использовали листья картофеля сорта Ранняя роза. Каллусы культивировали на чистой среде Мурасиге и Скуга (МС) и с добавлением СК (0,05 мМ) или ЖК ( $10^{-7}$  М). Каллусы инфицировали суспензией зооспор *Phytophthora infestans* ( $10^5$  спор/мл). Активность гидролаз и их ингибиторов в тканях картофеля определяли спектрофотометрически по гидролизу хромогенного синтетического субстрата БАПНА и по скорости гидролиза субстрата (желатина, крахмал), иммобилизованного в геле агарозы.

Показано, что изменения активности протеолитических, амилолитических ферментов, а также их ингибиторов имеют место как при заражении фитофторой, так и под воздействием обработки каллусов индукторами устойчивости. Так, в инфицированных каллусах уже в начале взаимодействия растительных клеток с патогеном (3-сутки после инокуляции) происходит повышение протеолитической активности, и соответственно, снижение активности ингибиторов протеиназ (ИП). Однако на 10-е сутки инфицирования активность ИП в каллусах картофеля во всех вариантах опыта становилась выше, чем в контроле. Интересно отметить, что заражение каллусов сопровождалось полным подавлением амилолитической активности

в тканях. Так во всех вариантах опыта в неинфицированных каллусах выявлялась активность амилолитических ферментов. Причем, обработка незараженных каллусов индукторами устойчивости существенно повышала уровень активности амилаз в растительных тканях. Напротив, при заражении активность амилаз не выявлялась. Вероятно, заражение тканей картофеля приводит к полной блокировке амилолитической активности, возможно за счет синтеза (активации) ингибиторов этих ферментов.

Работа выполнена при финансовой поддержке АВЦП «Развитие научного потенциала высшей школы» №2.1.1./5676, ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы проект № 2010-1.2.1-101-007-018.

## **ТРАНСГЕНЕЗ КАК СПОСОБ ПОВЫШЕНИЯ СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТИ У РАСТЕНИЙ**

Ибрагимова С.С., Романова А.В., Сангаев С.С., Кирсанова С.Н.\*, Кочетов А.В.

Институт цитологии и генетики СО РАН, просп. Акад. Лаврентьева, 10, 630090  
Новосибирск-90, тел.: +7(383)3634980, факс: +7(383)3331278

\* ГНУ Всероссийский институт картофельного хозяйства РАСХН,  
Московская область, Коренево

E-mail: [isola@bionet.nsc.ru](mailto:isola@bionet.nsc.ru) (Ибрагимовой С.С.)

Повышение устойчивости растений к абиотическому стрессу является одной из актуальных и долгосрочных задач сельскохозяйственной биотехнологии. В ответ на осмотический стресс, вызываемый факторами окружающей среды, растения накапливают низкомолекулярные органические метаболиты, получившие название осмопротектантов или совместимых осмолитов. Их накопление не является токсичным для клетки, что позволяет модулировать осмотический потенциал цитоплазмы в безопасном режиме. Накопленные к настоящему времени физиологические данные успешно используются в задачах по повышению уровня отдельных осмолитов с помощью методов современной геной инженерии. Так как некоторые виды растений имеют очень низкие уровни осмолитов или не имеют их совсем, модификация путей их биосинтеза с помощью трансгенеза является одним из возможных путей повышения стрессоустойчивости. Современные методы геной инженерии и пул доступных генов позволяют использовать как собственные гены растений, так и гены других организмов для повышения уровня целевого метаболита (осмолита) у растений.

Пролин – аминокислота, играет важную роль как структурный компонент белков и как свободная аминокислота. Его накопление наблюдали как у растений, так и у простейших, бактерий, подвергнутых различным видам стресса. У растений накопление свободного пролина происходит после воздействия высоких и низких температур, после повышенных концентраций NaCl и тяжелых металлов, оксидативном стрессе и воздействии ультрафиолетового излучения. На примере модельных трансгенных растений табака, несущих антисмысловой супрессор пролиндегидрогеназы (ПДГ) арабидопсиса, скорость лимитирующего фермента деградации пролина, показано, что с повышением уровня свободного пролина, вызванного снижением активности ПДГ, у трансгенных растений повышается устойчивость к абиотическим факторам. Тесты, проведенные в лабораторных условиях, показали устойчивость полученных растений к повышенным температурам на стадии прорастания семян, к высокому уровню засоления, к длительной засухе, к токсическим концентрациям солей тяжелых металлов. Трансформация коммерческого сорта картофеля Никулинский данной конструкцией не только повышала устойчивость трансформантов к засухе и засолению, но и повышала их устойчивость к фитофторозу.

Таким образом, предложенный подход модификации пула свободного пролина с помощью трансгеноза, может применяться как для получения различных форм растений устойчивых к абиотическому стрессу, так и для изучения роли пролина.

## **ИНГИБИРОВАНИЕ РОСТА КОРНЯ КАК ТЕСТ ДЛЯ ОЦЕНКИ ТОКСИЧНОСТИ СОЕДИНЕНИЙ И МОНИТОРИНГА СОСТОЯНИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ**

Иванов В.Б., Быстрова Е.И.

Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева РАН; ул.Ботаническая 35, 127276 Москва, тел.: (499)2318324, факс: (495) 9778018

E-mail: [ivanov@ippras.ru](mailto:ivanov@ippras.ru)

В докладе будут рассмотрены два вопроса: 1) методология использования наблюдений за ингибированием роста корня для оценки токсичности разных соединений или объектов окружающей среды, 2) механизмы стресс-устойчивости роста корня, определяемые организацией его роста на клеточном уровне, которые были выявлены при изучении реакции разных процессов, слагающих

рост корня, к действию самых разнообразных химических соединений. В докладе будут использованы данные полученные нами при изучении на корнях токсичности более 1000 различных соединений, отличающихся по механизму действия. Ингибирование роста корня части используется как тест для оценки токсического действия различных соединений, однако эти исследования зачастую ограничены лишь однократным измерением прирост корней и неполным изучением зависимости наблюдаемых изменений во всем диапазоне действия изучаемого вещества от минимальных концентраций, оказывающих биологический эффект до летальных. Будет показано, почему при таком подходе теряются многие возможности сделать вывод о механизмах действия изучаемых соединений. Специально будет проанализирован вопрос о том, какую информацию дает изучение развитие токсического эффекта во времени. Такие исследования позволяют выявить простыми методами цитостатики, мутагены и эмбриотоксические вещества, эффект которых может проявляться даже не в первом поколении. Будут рассмотрены разные клеточные механизмы, определяющие устойчивость роста корней к различным стрессовым воздействиям. К ним относится выделение клеток покоящегося центра и регуляция их поведения состоянием большей части меристемы, двойственная организация перехода клеток к растяжению – устойчивость процессов, контролирующих время жизни клеток в меристеме и лабильность скорости деления клеток, разная чувствительность процессов роста и деления клеток, способность клеток регенерировать чехлик. Совокупность этих механизмов определяет целесообразное изменение скорости роста корней и его максимально возможную устойчивость к токсикантам.

Работа поддержана Грантом РФФИ 09-04-00919.

## **ОТЗЫВЧИВОСТЬ КОРНЕВОЙ СИСТЕМЫ РАЗНЫХ СОРТОВ ПШЕНИЦЫ НА ЛОКАЛЬНОЕ ПИТАНИЕ И ЕЕ РОЛЬ В ФОРМИРОВАНИИ ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ**

Иванов И.И., Трапезников В.К., Кудоярова Г.Р.

Институт биологии Уфимского научного центра РАН, просп. Октября 69, 450054  
Уфа, тел.: (347)2355362, факс: (347)2356247

E-mail: [i\\_ivanov@anrb.ru](mailto:i_ivanov@anrb.ru) (Иванову И.И.)

Локальное внесение удобрений приводит к повышению засухоустойчивости растений (Усов, Иванов, 1987; Усов и др., 1988). При этом в почве формируются очаги с повышенным содержанием элементов

питания, где происходит активное ветвление корней (Drew, Saker, 1975; Jackson et al., 1990; Robinson, 1996). Корни вне очага (НК) меньше ветвятся, что позволяет им быстрее расти в длину и облегчает поглощение воды в засушливых условиях, при которых верхние слои почвы пересыхают (Трапезников et al., 2003; Kudoyarova et al., 2003). Механизм гормональной регуляции такой специализации корней пока невыяснен. Участие ауксина в стимуляции ветвления корней подтверждено как использованием экзогенных, так и анализом эндогенных гормонов (Площинская и др., 2002; Walch-Liu et al., 2006). В настоящее время и при гетерогенном питании более интенсивное ветвление корней, функционирующих в очаге (ВК), связывается с опережающим накоплением в них ауксина (Иванов, 2009). В лабораторных условиях оценивали степень и направленность воздействия гетерогенности питательной среды на рост и развитие корней сортов пшеницы, контрастных по отзывчивости к локальному применению удобрений. ВК-корни более отзывчивого сорта ветвились на 30% интенсивнее, чем у неотзывчивого, что предварялось на 20-30% большим накоплением в них ИУК. При этом ветвление НК-корней было меньше, чем у ВК, что сопровождалось более выраженным их удлинением. Эта реакция ярче проявлялась у более отзывчивого сорта. Содержание АБК повышалось в ВК-корнях обоих сортов. Однако у неотзывчивого сорта на 4-5 суток выращивания происходило более резкое накопление этого гормона. По данным литературы АБК является антагонистом ИУК по характеру их действия на ветвление: ИУК стимулирует, а АБК подавляет образование боковых корней (De Smet et al., 2003). Соотношение ИУК/АБК у обоих сортов первые 3 суток было выше в ВК-корнях, а на 5 суток в НК. Это позволяет предполагать, что ингибирующее действие АБК на ветвление ВК-корней первое время не проявлялось благодаря более выраженному накоплению в них ИУК. Возможно, изменения содержания этого гормона определяют изменения линейного роста ВК и НК корней на более поздних стадиях ростовой реакции корневой системы на локальное питание. Известно, что ионы и вода неравномерно распределены в почве (Hodge, 2004; Jansen, 2006; Stevens, Jones, 2006). Поэтому функциональная специализация корней может происходить не только при локальном внесении удобрений. Поскольку специализация корней на поглощение ионов или воды способствует повышению засухоустойчивости растений, мы полагаем, что отбор растений в лабораторных условиях по признаку высокой отзывчивости на локальное питание может быть использован для селекции на засухоустойчивость. Дальнейшие исследования должны проверить эту гипотезу.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №10-04-97020.

## **ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МЕДИ И ЦИНКА ПРИ КОМПЛЕКСНОМ ДЕЙСТВИИ НА РАСТЕНИЯ РАПСА**

Иванова Е.М., Холодова В.П.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева, 117276, Москва, ул. Ботаническая, 35, тел. (495)9779254, факс (495)9778018.

E-mail: *ilma25@mail.ru* (Иванова Е.М.)

В последние десятилетия все большую актуальность приобретает проблема загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами (ТМ). В природе чаще всего встречаются почвы с комплексным загрязнением. Токсический эффект ТМ на среду зависит не только от концентрации конкретных металлов, но и от особенностей их взаимного воздействия.

В серии экспериментов моделировали ситуацию множественного загрязнения среды солями меди и цинка в высоких (но не летальных) концентрациях. Исследования проводили на растениях рапса (с. Вестар), росших на стандартной среде Хогланда-Снайдерс с железом в форме  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ , содержащей 0.25 мкМ  $\text{CuSO}_4$  и 1 мкМ  $\text{ZnSO}_4$ . Высокую концентрацию ТМ создавали, внося в среду 50 мкМ  $\text{CuSO}_4$  и 1000 мкМ  $\text{ZnSO}_4$ , при совместном действии в этих же концентрациях в среду добавляли оба металла.

При внесении избытка Cu наблюдали относительно слабое ее накопление в корнях; в листьях нижнего яруса содержание Cu было в 2.5 раза выше, чем в верхнем ярусе. Zn в больших количествах аккумулировался в корне; в листьях верхнего яруса его содержание в 1.7 раза превышало концентрацию в нижнем. Внесение избытка Cu слабо повлияло на содержание Zn при его стандартной концентрации в среде, тогда как при стандартной концентрации Cu избыток Zn резко тормозил как поступление меди в растение, так и транслокацию в надземные органы. Другая картина наблюдалась при совместном внесении Cu и Zn в среду в высоких концентрациях. При избытке Zn в среде в 2.6 раза увеличилось содержание Cu в корне, что сопровождалось резким торможением ее транслокации в надземные органы. Влияние Cu на Zn выразилось в 8-11-кратном снижении Zn в корнях, при этом его транслокация снижалась всего в 2.5 раза, тогда как особенности распределения по ярусам практически не изменились.

В результате были установлены существенные различия во взаимовлиянии Cu и Zn как при избытке каждого из изучаемых ТМ на "партнера", так и при их совместном нахождении в среде. Увеличение поступления Cu в корень при избытке Zn происходило, возможно, из-за активации неспецифических мембранных транспортеров. Но, накопившись в больших концентрациях в корне, Zn препятствовал транслокации Cu



в надземные органы. Си в избыточных концентрациях препятствовала поступлению Zn в корень, причиной чего могла быть преимущественная локализации Си на наружной стороне плазматической мембраны, но влияние Си на транслокацию Zn было незначительным. Таким образом, благодаря высокой подвижности, Zn ингибировал передвижения Си вследствие его преимущества на уровне процесса загрузки ксилемы. Напротив, аккумуляция больших количеств Си в корне слабо влияла на локализацию Zn на тканевом уровне или на уровне клеточных компартментов, не мешая формированию транспортного фонда этого ТМ.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 10-04-00799-а, 08-04-90111-Мол\_а и Программы Президиума РАН “ Молекулярная и клеточная биология”.

## **АКТИВНОСТЬ НАДФН-ОКСИДАЗЫ В КОРНЯХ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА ПРИ РИЗОБИАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ДЕЙСТВИЯ НЕБЛАГОПРИЯТНОГО БИОТИЧЕСКОГО ФАКТОРА (*Escherichia coli*)**

Ищенко А.А., Васильева Г.Г., Глянко А.К.

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН;  
ул. Лермонтова, 132, 664033 Иркутск-33, тел.: (3952)428256, факс: (3952)510754

E-mail: [ustaft@sifibr.irk.ru](mailto:ustaft@sifibr.irk.ru) (Ищенко А.А.), [akglyanko@sifibr.irk.ru](mailto:akglyanko@sifibr.irk.ru) (Глянко А.К.),  
[vasgal@sifibr.irk.ru](mailto:vasgal@sifibr.irk.ru) (Васильева Г.Г.)

В естественных условиях в ризосфере корней растений всегда присутствует огромное количество микроорганизмов. Так, наряду с симбиотическими видами в почве могут присутствовать и патогенные, как для растения, так и для человека микроорганизмы. К их числу относится условно-патогенная бактерия *Escherichia coli* и симбиотические азотфиксирующие бактерии рода *Rhizobium*.

Известно, что многие микроорганизмы семейства *Enterobacteriaceae* способны проникать внутрь растительных тканей через корневую систему и сохраняться там длительное время (Лютин, 2007; Алексеенко и др., 2007).

В связи с этим интересно было выявить реакцию НАДФН-оксидазной ферментной системы бобового растения при взаимодействии с условно-патогенной *Escherichia coli* и влияние на неё ризобияльной инфекции.

Установлено, что инокуляция растений гороха эффективным производственным штаммом клубеньковых бактерий (штамм CIAM 1026) не вызывала достоверного изменения активности НАДФН-оксидазы

по сравнению с контролем, что, как можно предположить, связано со способностью ризобияльной инфекции изменять обмен веществ растения-хозяина с целью создания благоприятных условий для установления симбиотических взаимоотношений (Глянько и др., 2009).

Инокуляция проростков гороха *Escherichia coli* (штамм *XL-1Blue*) увеличивала активность данного ферментного комплекса в микросомальной клеточной фракции корней на 48% через 24 ч ( $P \geq 0,99$ ) и на 64% через 48 ч ( $P \geq 0,95$ ) по сравнению с контролем. Очевидно, что взаимодействие *Escherichia coli* с корнями бобового растения инициирует защитные механизмы, приводящие к активации НАДФН-оксидазного ферментного комплекса растения, что, в свою очередь, может коррелировать с увеличением АФК, приводя к окислительному взрыву.

При одновременной обработке корней проростков гороха *Escherichia coli* и *Rhizobium leguminosarum*, ризобияльная инфекция не только не снимала стимулирующий эффект условно-патогенной бактерии на НАДФН-оксидазную активность, но еще больше усиливала действие данного неблагоприятного фактора, при этом активность фермента увеличивалась более чем в два раза ( $P \geq 0,99$ ) по сравнению с контролем через 24 ч после обработки и на 91% ( $P \geq 0,95$ ) через 48 ч.

В данном случае наблюдался синергический эффект двух биотических факторов на активность фермента. Открытым в этой проблеме остается вопрос о внутриклеточной передаче сигналов от мембраносвязанного НАДФН-оксидазного ферментного комплекса на генетический аппарат растительной клетки. В связи с этим, дальнейшие исследования могут быть направлены на более детальное изучение установленных физиологических закономерностей.

## **ВЛИЯНИЕ КАДМИЯ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНА *PCS* И СОДЕРЖАНИЕ НЕПРОТЕИНОВЫХ ТИОЛОВ В КОРНЯХ И ЛИСТЬЯХ ЯЧМЕНЯ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВОЗРАСТА РАСТЕНИЙ**

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

Учреждение Российской академии наук Институт биологии Карельского научного центра РАН; ул. Пушкинская, 11, 185910 Петрозаводск, тел.:(8142)762706, факс:(8142)769810

E-mail: [kaznina@krc.karelia.ru](mailto:kaznina@krc.karelia.ru) (Казниной Н.М.)

В условиях лабораторного опыта изучали влияние кадмия на экспрессию гена *PCS*, кодирующего фитохелатинсинтазу, и

содержание непротеиновых тиолов у растений ячменя (сорт Зазерский 85) разного возраста. Проростки выращивали в песчаной культуре при температуре воздуха 20-22°C, освещенности 10 клк, фотопериоде 14 ч. На 3-и и 7-е сут после появления шильца соответственно 1-го или 2-го листа, растения переносили на раствор Кнопа половинной концентрации (контроль). В опытных вариантах к питательному раствору добавляли 100 мкМ кадмия в форме сульфата. Через 4 сут определяли уровень экспрессии гена *HbPCS*, содержание восстановленного глутатиона (GSH) и фитохелатинов (ФХ) в корнях и листьях, сформированных за это время. Помимо этого был проведен анализ содержания кадмия в органах растений. Уровень экспрессии гена оценивали методом ПЦР в режиме реального времени. Количество GSH и ФХ определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, а содержание кадмия – вольтамперометрическим методом.

Обнаружено, что в присутствии кадмия в корнях ячменя во всех вариантах опыта экспрессия гена *HbPCS*, а также общее содержание ФХ существенно возрастают. Вместе с тем уровень экспрессии гена в корне 3-дневных проростков, несмотря на меньшее количество в нем металла, оказался почти в 2 раза, а количество ФХ – в 1.5 раза выше, чем у 7-дневных. При этом содержание GSH в корне более молодых растений заметно снижалось, тогда как у более взрослых, наоборот, повышалось.

Влияние кадмия на изученные показатели в листьях было выражено в гораздо меньшей степени, чем в корнях, и зависимость их от возраста растений проявлялась менее отчетливо. В частности, в листьях не обнаружено достоверного увеличения экспрессии гена *HbPCS*. Содержание ФХ повышалось незначительно. В несколько большей степени изменялось количество GSH, причем, также как и в корнях, у 3-дневных проростков оно уменьшалось, а у 7-дневных увеличивалось.

В целом, результаты исследований показали, что в присутствии кадмия в корнях 3-дневных растений ячменя увеличивается экспрессия гена *HbPCS*, повышается содержание ФХ, при этом уровень GSH снижается. В отличие от этого, в корнях 7-дневных растений при меньших значениях уровня экспрессии гена и ФХ, наблюдается повышение количества GSH. В листьях изменения изученных показателей, а также влияние на них возрастных различий оказалось незначительным.

## **РОЛЬ НАДФН-ОКСИДАЗ В СИГНАЛЬНЫХ КАСКАДАХ ИНДУЦИРОВАННЫХ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТОЙ В КЛЕТКАХ УСТЬИЦ**

Калачова Т.А., Яковенко О.Н., Кретинин С.В., Кравец В.С.

Институт биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины; ул. Мурманская 1, 2094 Киев, тел (044)5732552

E-mail: [kalachova@bpci.kiev.ua](mailto:kalachova@bpci.kiev.ua)

Одной из важнейших первичных реакций растений на воздействие патогенов является закрытие устьиц, которое предотвращает проникновение возбудителя в ткани листа и одновременно запускает каскад адаптивных изменений клеточного метаболизма. В данной работе изучались молекулярные механизмы регуляции устьичного аппарата медиатором биотического стресса салициловой кислотой.

Закрывание устьиц обеспечивается повышением уровня внутриклеточных активных форм кислорода, в частности супероксида, основным источником которого является мембранная НАДФН-оксидаза. Известно также, что активатором НАДФН-оксидазы выступает продукт фосфолипазы D, важнейший вторичный месенджер липидного сигналинга - фосфатидная кислота. Нами было показано двукратное уменьшение апертуры устьиц *Arabidopsis thaliana* после 30 мин экзогенного воздействия 1 мМ салициловой кислоты (СК). Предварительная обработка специфичным ингибитором НАДФН-оксидаз (DPI – diphenyleneiodonium) предотвращала закрывание устьиц салициловой кислотой. У трансгенных растений AtRbohD, дефектных по D изоформе НАДФН-оксидазы наблюдалось лишь незначительное (5%) уменьшение устьичной апертуры в ответ на действие фитогормона, что указывает на нарушение передачи сигнала салициловой кислоты в клетках устьиц. При обработке DPI растений AtRbohD действие салициловой кислоты не вызывало достоверных изменений апертуры устьиц, что свидетельствует об ингибировании других изоформ НАДФН-оксидаз. Таким образом, D изоформа является ключевой изоформой НАДФН-оксидаз, задействованных в процессе закрывания устьиц в ответ на биотический стресс.

Исследования выполнены при поддержке Грантов НАН Украины 2.1.10.32-09 и 8-10.

## **ОПТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ РАСТЕНИЙ ПРИ СТРЕССЕ, ВЫЗВАННОМ УФ-В РАДИАЦИЕЙ, ДЕФИЦИТОМ ВОДЫ И АЗОТА В ПОЧВЕ**

Канаш Е.В., Панова Г.Г., Осипов Ю.А., Русаков Д.В., Капиносова М.А., Болдина Л.В.

Агрофизический научно-исследовательский институт Россельхозакадемии, Гражданский пр.14, 195220 Санкт-Петербург, тел.: (812)5355676, факс: (812)5341900

E-mail: [ykanash@yandex.ru](mailto:ykanash@yandex.ru) (Канаш Е.В.)

Оптические свойства листьев являются важнейшей характеристикой растений и главным образом определяются содержащимися в их тканях фотосинтетическими пигментами, зависят от структуры листа, содержания нефотосинтетических соединений и воды. Качественные и количественные изменения биохимического состава и структуры неизбежно сопровождаются изменением оптических свойств листьев, что позволяет выявлять возникновение стрессов и исследовать механизмы стрессовой реакции, устойчивости и адаптации растений с помощью не повреждающих их ткани контактных и дистанционных методов. Цель работы – исследование ответной реакции растений на ухудшение условий произрастания (дефицит воды, элементов минерального питания, УФ-В радиация) для экспресс-диагностики окислительного стресса.

Объектом исследования служили растения ячменя и пшеницы различных сортов. Спектры отражения листьев в диапазоне 400-1100 нм записывали с шагом 0,3 нм с помощью оптоволоконного спектрометра HR2000 (Ocean Optics). Контролем служили растения, растущие в отсутствие УФ-В радиации, при влажности почвы 60-70% ПВ, содержании NPK – 60 кг/га действующего вещества. УФ стресс вызывали облучением растений в дозе 6 кДж/м<sup>2</sup> на стадии выхода в трубку. При создании водного стресса влажность почвы поддерживали равной 20-30% ПВ. Для изучения оптических характеристик растений в условиях дефицита азотного питания в почву вносили только содержащие фосфор и калий удобрения из расчета 60 кг/га действующего вещества. Физиологическое состояние растений оценивали по изменению индексов отражения: хлорофилла, антоцианов, флавонолов, воды и некоторых других. Торможение роста при изученных стрессах сопровождалась снижением эффективности использования света растением: накоплением экранирующих УФ-В радиацию и ФАР веществ, усилением тепловой диссипации осуществляющейся с участием пигментов ксантофиллового цикла и возрастанием рассеяния, обусловленного структурными изменениями листа. Все наблюдаемые изменения активности

фотосинтетического аппарата при действии УФ-В радиации, почвенной засухи и дефицита азотного питания свидетельствуют о неспецифическом ответе на действие стрессора. В отличие от дефицита азота, симптомы которого в первую очередь становятся заметными у листьев нижних ярусов, УФ-В радиация в большей степени повреждает молодые листья. Активность фотосинтетического аппарата листьев нижних ярусов, экранированных от прямого попадания УФ-В радиации обычно возрастает. Корреляционный анализ зависимости между нетто продуктивностью растений и характеризующими активность фотосинтетического аппарата индексами отражения, выполненный методами линейной и множественной регрессий, показал, что о возникновении окислительного стресса и механизмах устойчивости растений с высокой степенью достоверности можно судить по изменению показателей, характеризующих активность процессов "down regulation" фотосистемы II.

Работа выполнена при поддержке РФФИ. Грант №09-04-13827 офи\_ц.

## **О НЕКОТОРЫХ АСПЕКТАХ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ УСТОЙЧИВОСТИ БОБОВЫХ КУЛЬТУР К НЕБЛАГОПРИЯТНЫМ ФАКТОРАМ СРЕДЫ**

Канделинская О.Л.<sup>1</sup>, Грищенко Е.Р.<sup>1</sup>, Домаш В.И.<sup>1</sup>, Заболотный А.И.<sup>1</sup>, Будкевич Т.А.<sup>1</sup>, Прохоров В.Н.<sup>1</sup>, Хрипач В.А.<sup>2</sup>, Жабинский В.Н.<sup>2</sup>, Анохина В.С.<sup>3</sup>, Купцов Н.С.<sup>4</sup>, Топунов А.Ф.<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф.Купревича НАН Беларуси; ул. Академическая, 27, 200072 Минск, тел.: (37517)2841660, факс: (37517)2841853

<sup>2</sup> Институт биоорганической химии НАН Беларуси; ул.Купревича, 5, 220141 Минск, тел.: (37517)2678647, факс: (37517)2678761

<sup>3</sup> Белгосуниверситет, проспект Независимости, 4, 220030 Минск, тел.: (37517) 2095203, факс: (37517) 2265940

<sup>4</sup> Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию; ул. Тимирязева, 1, 222160 Жодино, тел.: (01775) 32568, факс: (3751775)37066

<sup>5</sup> Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН; Ленинский пр-т, 33, 119017 Москва, тел.: (495)9545283, факс: (495)9545283

e-mail: [okandy@biobel.bas-net.by](mailto:okandy@biobel.bas-net.by) (Канделинской О.Л.),

Исследование молекулярных механизмов неспецифической (конститутивной) устойчивости культурных растений становится одним из прерогативных направлений физиологии и биохимии растений, поскольку позволяет выявлять закономерности формирования

индуцированной устойчивости, что, в свою очередь, открывает широкие перспективы для разработки технологий повышения устойчивости растений к широкому спектру неблагоприятных факторов среды. В данной работе исследовали функциональное состояние системы протеолиза, активность белков лектинового типа (БЛТ), аппарата азотфиксации в клубеньках у различных генотипов галеги (*Galega L.*) и люпина узколистного (*Lupinus angustifolius L.*), различающихся по продуктивности, устойчивости к болезням, срокам вегетации. Кроме того, изучали указанные биохимические показатели у растений *Lupinus angustifolius L.* в онтогенезе при действии неблагоприятных факторов среды биотической и абиотической природы (антракнозный и фузариозный фон; тяжелые металлы – свинец, кадмий, медь; высокие температуры, засоление и др.). В качестве индукторов неспецифической устойчивости использовали стероидные гормоны брассинолид, гомобрассинолид, эпибрассинолид, синтезированные в ИБОХ НАНБ, а также лектин люпина узколистного. Показано, что в реализации конститутивной и индуцированной неспецифической устойчивости бобовых принимают участие как система протеолиза, так и БЛТ, взаимно дополняя или замещая друг друга. Установлена корреляционная связь между показателями устойчивости к фузариозу и антракнозу гаметофита и спорофита люпина и зависимость данного показателя от активности ингибиторов протеиназы и БЛТ как у кормовых, так и у сидеральных форм. Показано, что индукция неспецифической устойчивости может обеспечиваться регуляцией стадии защитного торможения в общем адаптационном синдроме посредством активации белков-ингибиторов протеиназы и БЛТ, что приводит к снижению токсического действия стрессоров на азотфиксирующую систему и продуктивность растений.

## **ДИАГНОСТИКА СТРЕССОВОЙ РЕАКЦИИ РАСТЕНИЯ ПРИ ДЕФИЦИТЕ ВЛАГООБЕСПЕЧЕННОСТИ ПОЧВЫ И ОСВЕЩЕННОСТИ**

Карманова О.И.

ГНУ АФИ Россельхозакадемии; Гражданский пр-т, 14, 195220 Санкт-Петербург, тел.: (812)534-13-24, факс: (812)534-13-24

E-mail: [karmanovs@bk.ru](mailto:karmanovs@bk.ru)

Для опытов использовался гибрид огурца F1 «Зозуля», среднеспелый с длительным периодом плодоношения. Выращивание производилось на

объёмной модульной вегетационной установке конструкции АФИ. Опыты проводились при двух уровнях почвенной влажности (достаточной 60-90%, дефицитной 30-60%) и величине освещённости 160 Вт/м<sup>2</sup>. Регистрация как экологических, так и физиологических параметров производилась с помощью специального информационно-измерительного устройства фитомониторинга «PhySCAN-3T». Использовались датчики экологических параметров и динамики водного обмена: температуры воздуха, относительной влажности воздуха, энергетической освещённости, скорости ксилемного потока, толщины листа в количестве трех штук и интенсивности транспирации. При проведении опыта переменными были освещённость и влагообеспеченность, остальные параметры поддерживались постоянными.

Следует принять во внимание, что измерение толщины листа является наиболее информативной величиной для выявления реакции стресса растения в ответ на изменения условий внешней среды. При одинаковой освещённости, у группы растений, не испытывающих дефицита почвенной влаги, наблюдались суточные колебания и общее нарастание толщины листа. У огурцов, подверженных прикорневому влагодефициту, по мере нарастания засухи, заметно уменьшение толщины листа, которое не компенсировалось даже в ночное время. В нормальных условиях выключение света характеризуется прекращением транспирации и быстрым нарастанием толщины листа.

На фоне предварительного длительного стресса, вызванного недостатком влаги, дополнительный стресс путём кратковременного выключения света в дневное время вызывал возникновение автоколебаний скорости ксилемного потока. В дальнейшем изменялась динамика толщины листа.

Таким образом, применение методики выявления стресса с помощью измерения физиологических характеристик растения, наиболее важной из которых является динамика толщины листа, позволяет обнаружить негативные воздействия факторов окружающей среды до возникновения необратимых процессов. Анализ кривых динамики водного обмена может быть руководством для выбора как интенсивности светового режима, в виде соотношения ночного и дневного периодов, общей продолжительности светового цикла, так и времени и объёма полива.

Характер реакций на включение и выключение света позволяет выявить состояния длительного стресса различной интенсивности независимо от причин его возникновения.



## **ВОЗМОЖНОСТИ ДИНАМИЧЕСКОГО ФИТОМОНИТОРИНГА В СЕЛЕКЦИИ ГЕНОТИПОВ ПО ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ**

Карманова О.И., Карманов И.В.

ГНУ АФИ Россельхозакадемии; Гражданский пр-т, 14, 195220 Санкт-Петербург,  
тел.: (812)534-13-24, факс: (812)534-13-24  
E-mail: *karmanovs@bk.ru* (Карманову И.В.)

В качестве инструмента интактного контроля динамики водного потенциала растения использовалась информационно-измерительная компьютеризованная система на базе технологии фитомониторинга. Засуха рассматривалась как комплекс атмосферных и почвенных условий, при которых происходит нарушение водного режима растений. Критерием засухоустойчивости являлась способность растения выдерживать длительное увядание.

Алгоритм дефицита влаги выражается в виде математических соотношений выражающих связь между толщиной листа и скоростью ксилемного потока в стебле (черешке листа). Расчётным путём определяется коэффициент корреляции между направлением изменения толщины листа и изменением скорости ксилемного потока.

Сравнительные опыты по анализу относительной физиологической засухоустойчивости базировались на системе уравнений, которые связывали количественно реакции двух растений на внешние воздействия в виде почвенной и атмосферной засухи. Анализировались скорости ксилемного транспорта и толщины листьев устойчивых и неустойчивых особей при снижении водного потенциала, их сравнении со скоростью и толщиной листьев до стресса. Формулы означают, что при стрессе засухоустойчивая особь в большей степени снижает транспирацию и, в результате, её тургор сохраняется лучше.

Чем меньше при одинаковых внешних воздействиях оказываются снижения толщины, и чем выше угол линейного тренда скорости, тем больше засухоустойчивость объекта. Устойчивость растений можно связать с их структурно-функциональной организацией. Структурные различия, в частности в жёсткости апопласта, приводят к функциональным различиям в стратегии реагирования на водный стресс. Устойчивая особь уже при небольшой отрицательной динамике водного потенциала снижает интенсивность обменных процессов и, тем самым, сохраняет практически без изменений оводнённость тканей. Неустойчивая особь не снижает обменных процессов, с течением времени происходит одновременный резкий спад тургора и ксилемного транспорта. Полив у устойчивой особи позволяет восстановить

требуемые оводнённость и водный потенциал растения. У неустойчивой особи после полива толщина стебля (листа) и интенсивность водного обмена полностью не восстанавливались.

Классификация генотипов располагается в системе координат «угол линейного тренда – номер генотипа». Динамический фитомониторинг позволяет без смены поколений идентифицировать генотип по признаку его засухоустойчивости, т.е. позволяет быстро определить вызвано ли значение признака у данной особи генетическими свойствами или является случайным показателем в результате особенностей среды обитания данной особи.

## **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТАБОЛИТОВ БАКТЕРИЙ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ТОЛЕРАНТНОСТИ РАСТЕНИЙ К НЕФТЯНЫМ ЗАГРЯЗНЕНИЯМ ПОЧВЫ**

Карпенко О.<sup>1</sup>, Щеглова Н.<sup>1</sup>, Вильданова Р.<sup>1</sup>, Хатисашвили Г.<sup>2</sup>, Квеситадзе Г.<sup>2</sup>, Баранов В.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ИнФОУ им. Л.М. Литвиненко НАН Украины, Научная За, Львов, Украина, тел.: (+380)32 2640740, факс: (+380)32 2635174

<sup>2</sup> Институт биохими и биотехнологии им.С.В. Дурмишидзе, Тбилиси, Грузия, факс: (+995)32 528026

<sup>3</sup> Львовский Национальный университет им. И.Франко, Львов, Украина

В настоящее время чрезвычайно остро стоит проблема создания эффективных экономически выгодных технологий очистки почв, загрязненных нефтепродуктами. Фиторемедиационные технологии, основанные на применении экологического потенциала растений и микроорганизмов, являются чрезвычайно перспективными в связи с их неоспоримыми преимуществами. Наибольшего эффекта можно достигнуть при поэтапном использовании микробных препаратов и нефтетолерантных растений-ремедиантов, которые, в свою очередь, способствуют развитию автохтонной микрофлоры. Однако лимитирующим фактором для растений является токсичность нефти, ее гидрофобность, малая мобильность молекул и их сорбция на грунте. Актуальной задачей при разработке технологий ремедиации является повышение устойчивости растений к загрязнениям почв и другим стрессовым факторам.

Для решения поставленной задачи нами использованы биопрепараты на основе микроорганизмов-азотфиксаторов (*Enterobacter* sp), а также гликолипиды и их комплексы – продукты

биосинтеза бактерий рода *Pseudomonas*. Важными свойствами полученных бактериальных метаболитов являются поверхностная и эмульгирующая активность, регуляция процессов смачивания, сорбции-десорбции, а также биodeградеability, что делает их перспективными для экологически безопасных технологий, в том числе фиторемедиационных.

В модельных вегетационных экспериментах было показано, что растения рапса, ржи и райграса, семена которых были обработаны растворами гликолипидов (0,01-0,05 г/л), способны расти на почвах, загрязненных нефтью на 5% и даже 7%. В соответствующих контрольных вариантах наблюдалось значительное ингибирование роста. Положительные результаты получены и при предпосевной обработке семян ржи препаратами *Enterobacter* sp., а также *Enterobacter* sp. совместно с гликолипидами: выявлено повышение толерантности растений к загрязнениям почвы и увеличение их биометрических показателей относительно контроля.

Полученные результаты показывают перспективу использования бактериальных поверхностно-активных метаболитов в новой комплексной фиторемедиационной технологии для рекультивации территорий, загрязненных нефтепродуктами.

Исследования выполнены в рамках проекта УНТЦ 4784.

## **АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА И ИОНЫ КАЛЬЦИЯ КАК ВОЗМОЖНЫЕ ПОСРЕДНИКИ В ПРОЦЕССЕ ИНДУЦИРОВАНИЯ ТЕПЛОУСТОЙЧИВОСТИ РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК ДОНОРОМ ОКСИДА АЗОТА (NO)**

Ю.В. Карпец, Ю.Е. Колупаев

Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева, Украина, 62483, Харьков, п/о «Коммунист-1», тел.: (0572)997352

E-mail: [plant\\_biology@mail.ru](mailto:plant_biology@mail.ru) (Карпцу Ю.В.)

В настоящее время монооксид азота (NO) рассматривается в качестве одного из посредников при формировании ответных реакций растений на действие стрессоров различной природы. Несмотря на установленную связь между NO, активными формами кислорода (АФК) и кальцием как участниками трансдукции клеточных сигналов, сообщается, что некоторые физиологические реакции растений, индуцируемые экзогенным оксидом азота, могут реализоваться без

участия АФК и кальция как внутриклеточных посредников (Lu et al., 2005; Caurtois et al., 2008). Целью нашей работы явилось изучение влияния донора оксида азота нитропрусида натрия (НПН) на теплоустойчивость колеоптилей пшеницы и возможного участия АФК и ионов кальция как посредников в реализации эффектов экзогенного NO. Известно, что в зависимости от концентрации оксид азота может вызывать как про-, так и антиоксидантные эффекты у растений (Tewari et al., 2008; Zhang et al., 2009). Высокие концентрации оксида азота могут индуцировать клеточную гибель (Дубовская и др., 2007). В наших экспериментах 24-часовая обработка отрезков колеоптилей, отделенных от 4-суточных этиолированных проростков пшеницы сорта Элегия, НПН в концентрации 0,5 мМ вызывала повышение их выживания после потенциально летального нагрева (43 °С в течение 10 мин). Более высокая концентрация донора оксида азота (5 мМ) вызывала фрагментацию ДНК в колеоптилях (признак апоптоза) и снижала их теплоустойчивость. НПН в концентрации 0,5 мМ, повышающей теплоустойчивость колеоптилей, вызывал значительное усиление генерации ими супероксидного анион-радикала. Сканвенжер NO метиленовый синий (5 мкМ), антиоксидант ионол (бутилгидрокситолуол, 5 мкМ), блокатор кальциевых каналов хлорид лантана (400 мкМ) и антагонист кальмодулина хлорпромазин (5 мкМ) в значительной степени уменьшали усиление генерации супероксида и снижали эффект повышения теплоустойчивости колеоптилей пшеницы, вызываемый действием донора оксида азота. Одним из вероятных механизмов усиления экзогенным NO образования супероксида может быть повышение активности НАДФН-оксидазы, которая является одним из основных генераторов супероксида клеточной поверхностью. Показано увеличение активности этого фермента и усиление генерации супероксидного анион-радикала в культуре тканей корней женьшеня под влиянием нитропрусида натрия (Tewari et al., 2008). Наблюдаемое в наших экспериментах угнетение эффектов оксида азота антагонистами кальция косвенно свидетельствует в пользу этого предположения, поскольку кальцию принадлежит важная роль в регуляции активности НАДФН-оксидазы (Wong et al., 2007). Таким образом, имеются основания полагать, что индуцирование теплоустойчивости колеоптилей при действии экзогенного NO происходит при посредничестве АФК и ионов кальция как внутриклеточных мессенджеров.

## **ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЙ СЕНСОР НА ОСНОВЕ ФЕМТОСЕКУНДНОГО СУПЕРКОНТИНУУМА ДЛЯ БИОМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Качалова Н.М.\* , Войцехович В.С.\* , Пентегов С.Ю.\*\*

\* Институт физики НАН Украины, 03028, Украина, г.Киев, пр-т Науки, 46

\*\* ООО Lasertrack, оф. 7016, Бизнес-парк Румянцево, Киевское шоссе, Москва 142784, Россия

В Институте физики НАН Украины разработан универсальный источник суперконтинуума на базе микроструктурированного фотонно-кристаллического волокна, накачиваемого фемтосекундным Ti:Sapphire лазером Mira Optima 900-F, который обеспечивает возможность получения пространственно-когерентного излучения в спектральном диапазоне от 530 нм до 1100 нм, а также определенных длин волн. Как известно, в области 650-1200 нм наблюдается так называемая оптическая прозрачность биотканей [1, 2]. В этой связи, представляет интерес использование возможностей источника фемтосекундного суперконтинуума в целях:

– формирования флуоресцентного изображения требуемым разрешением по времени (учитывая время жизни флуоресценции), необходимым уровнем возбуждения и длин волн излучения, а также поляризации;

– бесконтактного анализа внутренней микроструктуры неоднородных сред с использованием интерференционных методов. Интерференционные сигналы малой когерентности в системах оптической когерентной томографии [3] содержат информацию о свойствах исследуемых сред, что актуально для биомедицинских приложений;

– характеристики наноразмерных систем, которые могут применяться в качестве оптических маркеров или носителей лекарственных средств. Это возможно благодаря большому пиковому значению мощности излучения (~ 40 кВт) (наибольшая плотность спектральной мощности, примерно 300 мВт/нм и средняя плотность мощности ~ 0,3 мВт/нм в спектральном диапазоне от 530 до 1100 нм, при уровне сигнала не меньше 5 дБ).

Таким образом, созданный источник фемтосекундного суперконтинуума открывает новые перспективы для исследований в области молекулярной биологии и лекарственных средств, а также клинических приложений, выходящих за рамки биомедицины.

Работа выполнена в рамках проекта № 36-10 «Транслокация тяжелых металлов и фтора в системе «почва-растение» и повышение устойчивости растений при действии абиотических факторов» целевой комплексной междисциплинарной программы научных исследований НАН Украины по проблемам устойчивого развития, рационального природопользования и сохранения окружающей среды.

## РЕАКЦИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ДЯГИЛЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО (*Archangelica officinalis* L.) НА ЗАГРЯЗНЕНИЕ НЕФТЯНЫМИ УГЛЕВОДОРОДАМИ

Киреева Н.А., Григориади А.С., Багаутдинова Л.Ф.

Башкирский государственный университет; ул. Заки Валиди, 32, 450074 Уфа,  
тел.: (347)2736712

E-mail: vodop@yandex.ru (Киреевой А.Н.), nysha111@yandex.ru (Григориади А.С.),  
trimpampuska@mail.ru (Багаутдиновой Л.Ф.)

В условиях неуклонно возрастающего антропогенного давления на окружающую среду ее защита от техногенного загрязнения является одной из самых серьезных задач экологии. Для рекультивации нефтезагрязненных почв в настоящее время разработано много способов. Однако, ни один из них не позволяет полностью избавиться от нефтяных углеводородов. В настоящее время доказано, что на стадии доочистки более эффективны оказались технологии фиторемедиации. Для рекультивации почвы, загрязненной нефтью и нефтепродуктами, нами было предложено использовать дягиль лекарственный (*Archangelica officinalis* L.). При воздействии нефти и нефтепродуктов у растений изменялся ряд морфологических и физиологических характеристик. Несмотря на существенное снижение степени аэробности почвы, даже через 30 суток воздействия нефти растения дягиля не погибли. Было отмечено, что масса растений, подвергшихся воздействию нефти в концентрации 6%, снизилась на 15% по сравнению с контролем. Влияние минимальной концентрации нефти (1%) значительно не отразилось на морфологических параметрах растения. Важным эколого-физиологическим параметром оценки влияния нефтяного загрязнения на рост и развитие растений являются изменения в фотосинтетическом аппарате, в частности содержание хлорофилла в листьях растения. Сравнение спектральных характеристик листьев дягиля, полученных из усредненных образцов, показало, что различия между интактными и экспериментальными растениями проявились на 14 сутки эксперимента, причем в первую очередь изменились коротковолновые характеристики пигментов, в области 410-450 нм. Через 30 сут. культивирования растений на нефтезагрязненной почве отмечено угнетение фотосинтеза в варианте с 1%-ым загрязнением. Максимальное содержание хлорофиллов, как и ранее, было отмечено при воздействии нефти в концентрации 3%, в первую очередь это коснулось хлорофилла *b*, более устойчивого к действию стрессоров. Отмечалось также снижение соотношения хлорофилльного индекса ( $\lambda_{435}/\lambda_{665}$ ), что отражает возрастание доли хлорофилла *b* характерного для растений, находящихся

в условиях стресса. Снижение аэробности среды вызывает нарушение фотосинтеза, что в свою очередь, нарушает усвоение аммонийной формы азота, метаболизируемого с помощью органических кислот. Таким образом, максимальное содержание хлорофилла отмечено в варианте с внесением нефти в концентрации до 3% во все сроки экспериментов. Внесение нефти в дозах >3-6% вызывало менее выраженную стимуляцию биосинтеза хлорофилла.

## **ВЛИЯНИЕ ПОВЫШЕННОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ НА СОДЕРЖАНИЕ СТРЕССОВЫХ БЕЛКОВ У ВЫСШИХ ВОДНЫХ РАСТЕНИЙ БАЙКАЛЬСКОГО РЕГИОНА**

Кириченко К.А., Побежимова Т.П., Грабельных О.И., Павловская Н.С., Любушкина И.В., Войников В.К.

Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения РАН; ул. Лермонтова, 132, 664033 Иркутск, тел.: (3952)424659, факс: (3952)510754 E-mail: kuzma@sifibr.irk.ru (Кириченко К.А.)

Вода – важнейший составной элемент всех живых организмов и биосферы. В байкальском регионе сосредоточены значительные запасы качественной пресной воды, только в озере Байкал содержится до 20% её мировых запасов. В связи с возрастающим потреблением воды и загрязнением водоёмов актуальными становятся работы по изучению высших водных растений, как компонента сохранения, поддержания и оценки качества воды. Однако многие особенности физиологии и биохимии данных организмов недостаточно изучены. Целью исследования было изучение особенностей метаболизма стрессовых белков высших водных растений в условиях гипертермии. Макрофиты: *Elodea canadensis* Michx. и *Potamogeton crispus* L. собирались в верхнем течении реки Ангара. Затем они содержались 14–30 дней в аквариумах при постоянной аэрации, температуре 19–20°C и замене воды. Вода для содержания растений бралась из реки Ангара. Источником света служили флуоресцентные фитолампы Sylvania F18W/GRO. Фотопериод 16 ч, интенсивность освещения 1000 лк. Представлены результаты начатых нами работ по изучению метаболизма стрессовых белков у водных растений при воздействии стрессоров. У *P. crispus* температура 45°C в течение 3 и 6 ч приводила к последовательному накоплению стрессовых белков с молекулярными массами 101 и 70 кДа, содержание белка с массой 60 кДа увеличивалось через 3 ч содержания и в течение последующих 3-х часов оставалось на достигнутом уровне. Кроме того, у данного вида обнаружено значительное

накопление низкомолекулярного БТШ с массой 17,6 кДа (1-ый класс). Под воздействием температуры 40°C в течение 3 ч у *E. canadensis* снижался уровень БТШ с массой 101 и 70 кДа, однако в данных условиях происходило накопление низкомолекулярного БТШ с массой 17,6 кДа (1-ый класс). Содержание БТШ 60 оставалось на контрольном уровне. Показаны изменения в содержании стрессовых белков в ответ на температурное воздействие у исследованных видов. На основании представленных данных можно заключить, что для *P. crispus* 45°C является более мягким стрессором, чем температура 40°C для *E. canadensis*.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №08-04-01037.

## **АНАТОМО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ АДАПТАЦИИ ЛИСТЬЕВ РАСТЕНИЙ В ГРАДИЕНТЕ ТЕХНОГЕННОЙ НАГРУЗКИ**

Киселева И.С., Хлыстов И.А.\* , Трубина М.Р.\*

Уральский государственный университет им. А.М. Горького; пр. Ленина, 51 620000, г. Екатеринбург

\* Институт экологии растений и животных УрО РАН; ул.8 марта, 202, 620008, г. Екатеринбург

E-mail: [Irina.Kiselyova@usu.ru](mailto:Irina.Kiselyova@usu.ru) (Киселевой И.С.)

Для растений загрязнение окружающей среды становится важным фактором, к которому они эволюционно не приспособлены. Оно влияет на их рост и развитие, вызывая обычно их торможение или нарушение. В связи с этим важным является исследование механизмов устойчивости растений к поллютантам различной природы. В данной работе был изучен ряд анатомо-морфологических и физиолого-биохимических признаков, обеспечивающих устойчивость растений из природных местообитаний с различным уровнем и типом загрязнения и их семенного потомства, выращенного в условиях благоприятного экофона. В работе использованы растения двух видов, широко распространенных в градиенте загрязнения – Скерда кровельная (*Crepis tectorum* L.) и горичвет-кукушкин цвет (*Coronaria flos-cuculi* L.) из биотопов, разноудаленных от источников эмиссии поллютантов двух заводов – Полевского криолитового (ПКЗ) и Среднеуральского медеплавильного (СУМЗ). Определены параметры мезоструктуры листа, содержание фотосинтетических пигментов, активность СОД, содержание SH-содержащих белков у растений в норме и при стрессе. Установлено, что



у семенного потомства горчицвета из импактных местообитаний вблизи СуМЗ и ПКЗ в сравнении с фоновыми меньше размеры листовых розеток, выживаемость и доля особей, перешедших в генеративное состояние. Также у них больше толщина листа и мезофилла, число хлоропластов в клетках, меньше  $A_{mes}/A$  и содержание клеток в единице площади листа. В листьях растений из импактных биотопов в окрестностях СУМЗ и их семенного потомства увеличено содержание хлорофилла «а»; а из местообитаний вблизи ПКЗ - содержание хлорофиллов «а», «b» и каротиноидов значительно меньше, чем у растений из фоновых биотопов. У семенного потомства растений скерды и горчицвета при провоцирующем краковременном воздействии высокими дозами  $Cu^{2+}$  или NaF наблюдали более сильное увеличение активности СОД в сравнении с растениями из фоновой зоны. Результаты дискриминантного анализа морфофизиологических показателей, определенных как для растений из природных популяций, так и их семенного потомства, показали наличие различающихся по устойчивости к аэротехногенному загрязнению групп растений в местообитаниях, разноудаленных от источника поллютантов. Это позволяет предположить, что отмеченные особенности растений из местообитаний с разным уровнем техногенной нагрузки носят приспособительный характер, проявляются не только у растений из природных биотопов, но и их семенного потомства., и, возможно, являются адаптациями, которые наследственно закреплены.

Работа выполнена при поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» ГК № П2364.

## **СОДЕРЖАНИЕ КОМПОНЕНТОВ СИСТЕМЫ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ В ПРОРАСТАЮЩИХ СЕМЕНАХ ДВУХ СОРТОВ ЯРОВОГО ЯЧМНЯ, ОТЛИЧАЮЩИХСЯ ПО УСТОЙЧИВОСТИ К ЗАСУХЕ**

Ковалёва О.Н., Казакова А.С.

ФГОУ ВПО «Азово-Черноморская агроинженерная академия», 347740, Россия, Ростовская область г. Зерноград, ул. Ленина, 21, тел./факс (86359)43380

E-mail: [Kasakova@inbox.ru](mailto:Kasakova@inbox.ru)

В процессе прорастания семена подвергаются отрицательному действию окислительного стресса. В клетках против этого действует антиоксидантная система, одним из компонентов которой является аскорбиновая кислота. Система аскорбиновой кислоты растений включает

восстановленную аскорбиновую (АК), дегидроаскорбиновую (ДАК), а также дикетогулоновую (ДКГК), образующуюся из ДАК. Окисляясь, АК переходит в ДАК – этот процесс обратимый.

В данной работе изучено содержание и функционирование компонентов системы АК двух сортов ярового ячменя, отличающихся по устойчивости к дефициту влаги в период прорастания семян: сорт Стимул – устойчивый и Мамлюк – неустойчивый. Для работы отбирали семена, находящиеся на одной микрофенологической фазе прорастания семян (МФФ ПС): «точка» – наклёвывание семени; «к-2» – короткие корешки; «к-3» – длинные корешки; «проросток» – семя проросло (Казакова А.С, Козяева С.Ю., 2009). Анализ проводили на изолированных зародышах (1 г абсолютно сухой массы). Содержание АК, ДАК и ДКГК определяли по методу Соколовского и др.

В сухих семенах обоих сортов отсутствует АК, а ДАК имеется только в семенах сорта Стимул ( $17,6 \text{ мкг/мл} \cdot 10^{-5}$ ). У сорта Стимул содержание АК постепенно возрастает на протяжении всех МФФ ПС – от 18,7 до  $96,1 \text{ мкг/мл} \cdot 10^{-5}$ . Содержание ДАК возрастает до фазы «точка» ( $44,5 \text{ мкг/мл} \cdot 10^{-5}$ ), затем снижается в фазе «к-2» ( $27,7 \text{ мкг/мл} \cdot 10^{-5}$ ) и вновь возрастает до фазы «к-3» ( $33 \text{ мкг/мл} \cdot 10^{-5}$ ) и «проросток» ( $35,5 \text{ мкг/мл} \cdot 10^{-5}$ ).

У сорта Мамлюк на протяжении от фазы «точка» до «к-3» содержание АК остаётся практически на одном уровне, а затем до фазы «проросток» возрастает в 2,2 раза. ДАК появляется в фазе «точка» ( $19,8 \text{ мкг/мл} \cdot 10^{-5}$ ) и её содержание возрастает до фазы «к-3» ( $53,1 \text{ мкг/мл} \cdot 10^{-5}$ ), а затем несколько снижается к фазе «проросток» ( $48,8 \text{ мкг/мл} \cdot 10^{-5}$ ). Содержание ДКГК у обоих сортов существенно превышает содержание АК и ДАК на всех МФФ ПС; её содержание снижается к моменту наклеивания, а затем опять повышается.

В период интенсивного формирования и роста зародышевой корневой системы, когда активизированы все метаболические пути клетки, возможно образование активных радикалов кислорода, что приводит к активному использованию запасов АК клеткой. Именно в этот период (МФФ «к-2» и «к-3») происходят наиболее значительные изменения в содержании АК и ДАК и выявляются сортовые различия по интенсивности процессов регенерации АК. У устойчивого к засухе сорта Стимул содержание АК возрастает на фоне снижения количества ДАК, у а неустойчивого сорта Мамлюк – наблюдается обратная картина. Снижение содержания ДКГК в процессе набухания, которая присутствует в сухих семенах, можно объяснить её гидролизом и метаболизацией полученных продуктов.

## РОЛЬ СВОБОДНОГО ГИСТИДИНА В ПЕРЕДВИЖЕНИИ И НАКОПЛЕНИИ ЦИНКА У *Thlaspi caerulescens* J. & C. Presl. И *T. arvense* L.

Кожевникова А.Д.\*, Серегин И.В.\*, Schat H.\*\*

\* Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая 35, 127276 Москва, тел.: (499)2318324, факс: (495)9778018

\*\* Vrije Universiteit; De Boelelaan 1085, 1081 HV Amsterdam, tel.: (3120) 5987052

E-mail: [ecolab-ipp@yandex.ru](mailto:ecolab-ipp@yandex.ru) (Кожевниковой А.Д.)

Тяжелые металлы являются распространенными стресс-факторами, влияние которых на растения активно изучается, однако физиологические механизмы, определяющие способность растений накапливать тяжелые металлы, до сих пор плохо изучены. Органические хелаторы, в частности гистидин, играют важную роль в передвижении и накоплении тяжелых металлов. Для анализа накопления и распределения Zn, растения *T. caerulescens* (гипераккумулятор) выращивали на ½ среды Хогланда в течение 8 недель в присутствии 2, 50, 200 или 800 мкМ Zn, а *T. arvense* (исключатель) – в присутствии 2, 50 или 70 мкМ Zn. Для сбора пасоки 8-недельные растения, выращенные в присутствии 2 мкМ Zn, инкубировали в течение 4 ч на растворах 1 мМ L-His или L-Ala (контроль). В качестве контроля служили также неподобработанные растения. После предобработки корни отмывали, побеги отрезали и пасоку собирали в течение ночи, инкубируя корневые системы на ½ среды Хогланда в присутствии 5, 50 или 500 (только для *T. caerulescens*) мкМ Zn. Содержание Zn определяли методом пламенной атомно-абсорбционной спектроскопии. Распределение Zn по тканям изучали гистохимическими методами с использованием индикаторов Zinpur-1 и цинкона. У обоих видов при низких концентрациях Zn в среде металл был обнаружен в клеточных оболочках ризодермы, коры, эндодермы и сосудов ксилемы, а также в протопластах растущих корневых волосков, перидермы, флоэмы и ксилемной паренхимы. При высоких концентрациях Zn выявлялся во всех тканях корня и накапливался в апексе корня, в растущих примордиях боковых корней, корневых волосках и в протопластах клеток центрального цилиндра и внутреннего слоя коры. В побегах *T. arvense* Zn выявлялся в проводящих пучках. У *T. caerulescens*, помимо проводящих пучков, Zn накапливался в крупных водозапасающих клетках эпидермы, в замыкающих клетках устьиц и в клетках мезофилла. Предобработка гистидином стимулировала загрузку Zn в ксилему только у *T. caerulescens*. Так, концентрация Zn в пасоке *T. caerulescens*, предобработанных

гистидином, возрастала в 2-9 раз по сравнению с контролем. Этот факт, наряду с конститутивно повышенным содержанием гистидина в корнях *T. caerulea*, а также данными о менее эффективном накоплении Zn в вакуолях клеток корня у *T. caerulea* по сравнению с *T. arvense* (Lasat et al., 1998), позволяет предположить, что образование комплекса Zn с гистидином предотвращает поступление Zn в вакуоли клеток корня *T. caerulea*. Таким образом, уровень гистидина в корнях *T. caerulea* определяет количество металла, поступившего в ксилему. Полученные результаты согласуются с нашими данными о стимуляции загрузки Ni в ксилему *T. caerulea* в присутствии гистидина (Richau et al., 2009).

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Гранта РФФИ 08-04-00031.

## **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БЕЛКА ТЕПЛООВОГО ШОКА 70 кДа ДЛЯ ОЦЕНКИ НЕГАТИВНОГО ВЛИЯНИЯ ФАКТОРОВ СРЕДЫ НА РАСТЕНИЯ**

Козеко Л.Е.\*, Артеменко О.А.\* , Дидух А.Я.\*\* , Заславский В.А.\* , Дидух Я.П.\* , Кордюм Е.Л.\*

\* Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины; ул. Терещенковская, 2, 01601 Киев, Украина, тел./факс: +38(044)2723236

\*\* Ботанический сад им. А.В. Фомина Киевского национального университета им. Т. Шевченко; ул. Коминтерна 1, 01032 Киев, Украина, тел./факс: +38(044)2393190

E-mail: [kozeko@optima.com.ua](mailto:kozeko@optima.com.ua) (Козеко Л.Е.)

Оценка и прогнозирование состояния растений, находящихся под влиянием неблагоприятных условий окружающей среды, является важной проблемой современной биологии. Поскольку в природных условиях растения испытывают влияние комплекса негативных факторов, приоритетным направлением стал поиск биомаркеров стрессового состояния растений. Белок теплового шока Hsp70 относят к стрессовым белкам, индукция которого происходит в ответ на действие разных стрессовых факторов, включая температурный, водный, анаэробный, оксидативный, осмотический, солевой виды стресса, гипоксию, действие тяжелых металлов, радиации, биотический стресс и т.д. Функционируя как шаперон, он осуществляет фолдинг и стабилизацию белков в ненативной конформации в ходе множества клеточных процессов. В стрессовых условиях его основная роль состоит в предотвращении агрегации денатурированных белков и

их рефолдинге. Индукция синтеза Hsp70 является одной из главных составляющих неспецифической стрессовой реакции у широкого ряда организмов. Данное исследование направлено на изучение возможности использования Hsp70 в качестве индикатора стрессового состояния растений природных популяций. С использованием метода иммуноблоттинга проведено тестирование ряда видов высших растений, которые в природных условиях испытывают действие значительных изменений водного режима вследствие флуктуаций гидрорежима водоемов или грунта, а также действие высоких температур. Для тестирования использовались различные по своей биологии и экологии виды: 1) *Sium latifolium* L., произрастающий в прибрежной водной зоне и на суходоле; 2) *Trapa natans* L. – в водоеме, на мелководье и при водном дефиците; 3) *Malva silvestris* L. – при нормальной влажности почвы и в условиях засухи; 4) *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. умеренно увлажненных и болотистых мест произрастания. Количество Hsp70 анализировалось в листьях растений. Полученные результаты дают основание считать, что уровень Hsp70 в растениях (в частности, в листьях) может быть интегральным показателем состояния растений при действии комплекса негативных факторов среды. Это подтверждает возможность использования Hsp70 для мониторинга природных популяций растений.

Работа проводится в творческом сотрудничестве с Министерством охраны окружающей среды Украины в рамках программы по инновационным проектам НАН Украины.

## **ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ АСКОРБАТ-ГЛУТАТИОНОВОГО ЦИКЛА В РАСТЕНИЯХ ТАБАКА С ПОВЫШЕННОЙ ЭКСПРЕССИЕЙ АСКОРБАТПЕРОКСИДАЗЫ ПРИ АБИОТИЧЕСКОМ СТРЕССЕ**

Козел Н.В., Шалыго Н.В.

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27; тел.: +375(017)284-23-56, факс: +375(017)284-23-59

E-mail: [kmu@tut.by](mailto:kmu@tut.by) (Козелу Н.В.)

Ключевую роль в детоксикации пероксида водорода в растительной клетке играет аскорбат-глутатионовый цикл, механизм функционирования которого заключается в восстановлении  $H_2O_2$  до воды с участием аскорбата и аскорбатпероксидазы (АПО). Аскорбат в этой реакции окисляется до дегидроаскорбата, который вновь

превращается в восстановленную форму за счет восстановленного глутатиона. Целью нашего исследования стало выяснение особенностей изменения активности АПО и количества аскорбата и глутатиона в растениях табака, трансформированных смысловым геном АПО, при действии контрастных абиотических факторов – фотоокислительного и низкотемпературного стрессов.

В опытах использовали 45-дневные растения табака (*Nicotiana tabacum* cv SNN), трансгенные по АПО, и растения дикого типа (ДТ), выращенные в режиме 14 ч света ( $150 \text{ мкмоль квантов} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ ) и 10 ч темноты при температуре  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ . Фотоокислительные процессы инициировали с помощью ксантенового красителя-сенсibilизатора бенгальского розового. Низкотемпературный стресс моделировали в течение 24 ч в холодильной камере с температурой  $+4^\circ\text{C}$  и указанным выше фотопериодом. Отметим, что изначально трансгенные растения табака обладают более высокой (на 85%) активностью АПО.

Установлено, что как при фотоокислительном стрессе, так и при действии низкой температуры растения-трансформанты также характеризовались более высокой активностью АПО по отношению к ДТ – на 30 и 20% при фотоокислительном и низкотемпературном стрессе соответственно. Количество аскорбата (как общего, так и восстановленного) в таких условиях в трансгенных растениях было ниже по сравнению с растениями ДТ, в то время как содержание глутатиона, преимущественно его окисленной формы, в трансформантах и при фотоокислительном, и при низкотемпературном стрессе превышало этот показатель для ДТ. Таким образом, трансформация растений табака смысловым геном АПО приводит к интенсификации функционирования в них аскорбат-глутатионового цикла, что проявляется в более интенсивном потреблении в трансформантах аскорбата на фоне повышенной активности АПО. Более высокое содержание глутатиона в трансформантах вероятно связано с его эффективным синтезом *de novo* для участия в поддержании пула восстановленного аскорбата. Отметим, что низкий уровень аскорбата в растениях-трансформантах в стрессовых условиях не является показателем низкого антиоксидантного статуса клетки, как это обычно принято считать, а напротив, свидетельствует об активном и эффективном функционировании защитной системы, что подтверждается более низким содержанием в листьях трансгенных растений активных форм кислорода как при фотоокислительном, так и при низкотемпературном стрессе.

# **КАЛЬЦИЙЗАВИСИМОЕ УСИЛЕНИЕ ГЕНЕРАЦИИ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА КОЛЕОПТИЛЯМИ ПШЕНИЦЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ: ВКЛАД ПЕРОКСИДАЗЫ И СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ**

Ю.Е. Колупаев, Ю.В. Карпец, Т.О. Ястреб

Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева, Украина, 62483, Харьков, п/о «Коммунист-1», тел. (0572)997352

E-mail: *plant\_biology@mail.ru* (Колупаеву Ю.Е.)

Салициловая кислота (СК) ныне рассматривается как важный посредник в передаче стрессовых сигналов в геном растительной клетки. Одним из эффектов СК является ее способность вызывать накопление активных форм кислорода (АФК), в частности, перекиси водорода. Имеются основания полагать, что именно АФК являются посредниками при индуцировании СК устойчивости растений к биотическим (Wendehenne et al., 1998) и абиотическим стрессорам (Колупаев и др., 2007). В то же время механизмы усиления генерации АФК, вызываемого СК, выяснены далеко не полностью. Как одну из основных причин накопления  $H_2O_2$  в растительных тканях под влиянием СК рассматривают ингибирование каталазы (Chen et al., 1997). Однако для многих видов растений характерно лишь незначительное угнетение этого фермента СК в физиологических концентрациях (Rao et al., 1997). Действие СК на другие ферментные системы изучено в меньшей степени. В настоящей работе нами оценивался вклад пероксидаз и супероксиддисмутазы (СОД) в усиление генерации АФК колеоптилями пшеницы, вызываемое экзогенной СК. Объектом исследования были отрезки колеоптилей пшеницы сорта Донецкая 48, отделенные от 4-суточных проростков. Обработка колеоптилей пшеницы СК вызывала в них повышение общей активности пероксидазы и внеклеточной (апопластной) формы этого фермента и активности СОД, а также усиление генерации  $O_2^{\cdot-}$  и накопления  $H_2O_2$ . Все эти эффекты нивелировались при обработке колеоптилей блокатором кальциевых каналов верпамиллом. Ингибитор биосинтеза белка циклогексимид (ЦГ) подавлял увеличение активности СОД и общей активности пероксидазы, однако не влиял на повышение активности внеклеточной пероксидазы. Одной из причин повышения активности апопластной пероксидазы в колеоптилях пшеницы под действием СК может быть кальцийзависимый выход части пула пероксидазы в апопласт. Для оценки возможного вклада этого фермента в генерацию  $O_2^{\cdot-}$  использовали обработку колеоптилей ингибитором пероксидазы салицилгидроксамовой кислотой (СГК). СГК уменьшала активность внеклеточной пероксидазы и вызываемое СК усиление образования  $O_2^{\cdot-}$ , что

дает основание рассматривать пероксидазу как один из ферментов, причастных к усилению генерации супероксида. При этом не исключается и вклад других ферментных систем, в частности, НАДФН-оксидазы, в данный процесс. Таким образом, составляющими вызываемого СК эффекта «окислительного стресса» в колеоптилях пшеницы являются кальцийзависимое увеличение активности пероксидазы и СОД, а также, как было установлено ранее, ингибирование каталазы (Колупаев и др., 2006). Вермапамил и ЦГ, а также антиоксидант ионол угнетали как усиление генерации АФК колеоптилями, так и вызываемое СК повышение теплоустойчивости колеоптилей. Это позволяет рассматривать АФК и АФК-генерирующие ферментные системы как обязательные компоненты в процессе индуцирования теплоустойчивости растительных клеток СК.

## **ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ ФЕНОЛКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ, СВОБОДНЫХ САХАРОВ И МАКРОЭЛЕМЕНТОВ В ТКАНЯХ ЗИМУЮЩИХ ОРГАНОВ *Potentilla alba* L. В УСЛОВИЯХ АНОМАЛЬНО ТЕПЛОЙ ЗИМЫ**

Кондратьева В. В., Воронкова Т. В., Шелепова О. В.

Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН, 127276 Москва, ул. Ботаническая, 4  
E-mail: [lab-physiol@mail.ru](mailto:lab-physiol@mail.ru)

Прослежена динамика уровня фенолкарбонových кислот (ФКК): хлорогеновой (ХК), кофейной (КК) и феруловой (ФК), водорастворимых сахаров и макроэлементов (N, P и K) в тканях зимующих органов (листьях и корневищах) многолетнего травянистого лекарственного растения, лапчатки белой, с выявления возможных путей защиты от абиотических стрессов. Исследование выполнено с октября 2006г. (осенняя генерация листьев) по апрель 2007г. (начало отрастания весенней генерации листьев). Этот период в средней полосе России характеризовался аномально высокой положительной температурой. Пробы для анализов брали ежемесячно. Растительный материал фиксировали при температуре -40°C и лиофилизировали. ФКК и свободные сахара определяли методом ВЭЖХ по внешнему стандарту, N, P и K спектрофотометрически согласно ГОСТу 27262-97. Выявлено, что характер динамики содержания ФКК и в листьях и в корневищах был сходным. Отмечено три пика: в октябре перед началом зимовки (максимум), в конце января, когда после длительной оттепели произошло резкое снижение температуры, и в марте, когда началось отрастание листьев весенней генерации. ХК и ФК идентифицированы в тканях корневищ и листьев, а КК только в листьях. При этом уровень ХК был на порядок выше, чем КК и ФК в листьях и на два порядка выше, чем ФК в корневище. Содержание ХК в тканях корневища почти



в десять раз превосходило ее содержание в тканях листьев. Значительное количество свободных сахаров определено во всех зимующих органах лапчатки белой. Преобладали глюкоза и фруктоза, причем их максимальное количество отмечено в наиболее холодный период зимы (январь, февраль), в это же время возрастало содержание олигосахаров - сахарозы, мальтозы и раффинозы. Кроме того, в тканях зимующих листьев идентифицирована стахиоза. Под действием протекторных механизмов существенно меняется интенсивность метаболических процессов, что отражается на динамике N, P и K. Содержание N в листьях было в 2-3 раза выше, чем в корневищах. Отмечено два пика – в конце декабря (первое похолодание) и в апреле (рост листьев весенней генерации). Динамика содержания P в тканях зимующих листьев была сходна с динамикой N, а уровень содержания K медленно снижался с октября по апрель. В корневищах уровень N менялся мало, а содержание P и K было максимальным осенью, к декабрю оно снижалось, и почти не менялось до апреля.

Итак, в тканях зимующих органов *P. alba* в течение осенне-зимне-весеннего периода происходило сопряженное с температурой воздуха изменение уровня ФКК, свободных сахаров и N,P,K. Возможно, эти изменения являются составной частью протекторного механизма, позволившего растениям адекватно реагировать на нетипичные условия зимовки, сохранить жизнеспособность и сформировать весной полноценные листья и генеративные побеги.

## **ОЦЕНКА ДЕЙСТВИЯ СУЛЬФАТНОГО ЗАСОЛЕНИЯ НА КЛЕТочный ЦИКЛ КОРНЕВОЙ МЕРИСТЕМЫ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ТОМАТА И ТАБАКА**

Кононенко Н.В., Серенко Е.К., Куренина Л.В., Гулевич А.А., Баранова Е.Н.

Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии РАСХН; ул. Тимирязевская, 42, 127550 Москва, тел.: (495)9771636, факс: (495)9770947  
E-mail: [nilava@mail.ru](mailto:nilava@mail.ru) (Кононенко Н.В.)

В работе рассматривается действие сульфата натрия на прохождение клеточного цикла не трансгенными томатами *Solanum lycopersicum Mill.* и табаком *Nicotiana tabacum L.* и их трансгенными линиями с геном FeSOD из *Arabidopsis thaliana*. Методом цитофотометрического анализа определено содержание ДНК в меристематических клетках корня под действием сульфата натрия в концентрации 1,1%, что соответствует осмотическому давлению 400 кПа. Изучение клеточного цикла корневой меристемы

томата и табака показало, что сульфат натрия по-разному влияет на распределение клеток по периодам интерфазы и митоза. Установлено, что как у трансгенного, так и у не трансгенного томата увеличивается количество ядер в фазе G1 клеточного цикла и уменьшается их число в S фазе. Это изменение, в сравнении с контролем, у не трансгенных томатов значительнее, чем у трансгенных, на 62% и 41% соответственно. У растений не трансгенного табака сульфатное засоление, напротив, увеличивает число ядер в S фазе и уменьшает их количество в G2, в то время как у трансгенных растений, увеличивает в G1 и снижает в S и G2.

Показано, что сульфат натрия ингибирует не только растяжение клеток, но и процесс клеточного деления. Так, у не трансгенного табака митотический индекс (МИ) снижается почти вдвое, а у трансгенного – на 18-27%, в зависимости от линии. Таким образом, действие сульфата натрия приводит к перераспределению интерфазных клеток по фазам клеточного цикла как у не трансгенных томата и табака, так и у трансгенных. Причем, у трансгенных растений в меньшей степени сокращается продолжительность клеточного цикла и оказывается влияние на процесс деления. Более медленное снижение пролиферации и задержка клеток в пресинтетической фазе свидетельствуют о большей устойчивости трансгенных растений к данным неблагоприятным условиям прорастания. В целом, трансгенные растения оказались более устойчивыми к сульфатному засолению по сравнению с не трансгенными.

Пролонгированное действие сульфата натрия показало, что по таким параметрам как МИ и распределение клеток по фазам клеточного цикла томат обладает большей устойчивостью к засолению, по сравнению с табаком. Полученные данные являются основой для разработки прогностического метода, позволяющего оценить солеустойчивость трансгенных с/х растений на ранних этапах их развития.

## **ВЛИЯНИЕ УФ-В СВЕТА НА ФИТОХРОМ А В ЭТИОЛИРОВАННЫХ ПРОРОСТКАХ ГОРОХА *Pisum sativum* L.**

Коппель Л.А., Беляева О.Б., Кочетова Г.В., Гурупрасад К.<sup>1</sup>, Синещеков В.А.

Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова; 189991 Москва, Ленинские горы, д.1, стр. 12; тел: (495)9395489, факс: (495)9394309

<sup>1</sup> School of Life Sciences, Devi Ahilya Univ., Indore, India, 04-270; Tel: (91731)2467029

E-mail: [Koppell@mail.ru](mailto:Koppell@mail.ru), [vsineshchekov@yahoo.com](mailto:vsineshchekov@yahoo.com)

Ранее было установлено, что выращивание растений на естественном свету, из которого исключен УФ-В компонент, приводит к значительному

увеличению их размера и биомассы (Guruprasad et al., 2007). В данной работе выясняли возможную роль фитохрома А (phyA) (см. обзор Sineshchekov 2004) в опосредовании действия УФ-В света на рост и развитие растений. Изучали изменение свойств phyA – содержания, спектральных и фотохимических характеристик, соотношения его нативных пулов, основного (phyA') и минорного (phyA''), а также регуляции им ростовых процессов и биосинтеза (прото)хлорофилл(ида) (PChlide) в модельном растении – горохе – в условиях предосвещения УФ-В светом.

Этиолированные растения гороха в возрасте 4 дней освещали УФ-В светом (лампа FL20S-E (Toshiba, Japan), стеклянный светофильтр УФС-2, 290-330 нм,  $\lambda_{max}$  = 311 нм) в течение 1 часа. Вторую группу растений сразу после этого освещали 5 минут дальним красным светом (ДК) для превращения физиологически активной дальней красной формы phyA (Pfr) в неактивную спектроскопически определяемую красную форму (Pr) (диапроектор «Связь» (Россия), светофильтры ФС-7+КС-19). Для выяснения влияния УФ-В освещения на регуляцию биосинтеза PChlide 3-дневные этиолированные проростки гороха помещали на 4 дня на ДК (контроль) или перед помещением на ДК проростки в течение 1 часа облучали УФ-В светом (опыт). Эффекты действия УФ света оценивали сразу после освещения и через 24 часа инкубации в темноте. Методом низкотемпературной спектрофлуорометрии *in vivo* при 85 К регистрировали спектры флуоресценции phyA и накопленного Pchlide; до и после освещения определяли размеры осевых органов проростков.

Обнаружено, что УФ-В предосвещение с последующей 24-часовой инкубацией вызывало стимуляцию роста (170%) и дифференциацию стебля при подавлении роста корня (85%). Эффект УФ света не обращался последующим освещением ДК. Вместе с тем, оно не влияло на индуцированное длительным ДК накопление нефотоактивного PChlide 633/628 – эффект, опосредованный phyA (Sineshchekov et al. 2004). Спектральные свойства phyA и его содержание не претерпевали изменения непосредственно после УФ-обработки. Однако через 24 часа инкубации в темноте наблюдали падение (в 1,5 раза) доли основного лабильного пула phyA' за счет относительно стабильного phyA''. Этот эффект может быть результатом опосредованного деструктивного действия УФ-В света на phyA или быть связан с изменением характера развития растения. Ранее мы наблюдали смещение равновесия в сторону phyA'' в условиях физиологического стресса – при дегидратации тканей (Sineshchekov, 2006), действии ингибиторов дыхания (Коппель и др., 2008) и протеинфосфатаз (Орехова и др., 2009). Направленность ростовых эффектов УФ-В и их наблюдение на мутанте *phyA* (предварительные данные) указывают на то, что они, вероятно, не связаны с *phyA*.

Исследования поддержаны грантом РФФИ № 09-04-92668 Инд\_а.

## **ВЛИЯНИЕ ОТРИЦАТЕЛЬНЫХ ТЕМПЕРАТУР НА ОБРАЗОВАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И УРОВЕНЬ ПОЛ В РАСТЕНИЯХ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ**

Королькова Д.В., Олениченко Н.А., Алиева Г.П., Загоскина Н.В.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая, 35, 127276 Москва, тел.: (495)9779433, факс: (495)9778018

E-mail: [korolkova\\_d\\_v@mail.ru](mailto:korolkova_d_v@mail.ru) (Королькова Д.В.)

Высшие растения достаточно часто подвергаются стрессовым воздействиям, в том числе и действию низких температур, что приводит к образованию активных форм кислорода и свободных радикалов, негативно влияющих на метаболизм клеток. К числу высокоэффективных антиоксидантов относятся фенольные соединения – одни из наиболее распространенных вторичных метаболитов. Увеличение их накопления в растительных тканях неоднократно отмечалось при действии низких положительных температур, тогда как влияние отрицательных температур на этот процесс изучено в значительно меньшей степени.

В связи с этим целью нашей работы являлось изучение изменений в образовании фенольных соединений, а также активности перекисного окисления липидов (ПОЛ) у растений пшеницы, подвергнутых действию низких температур.

Объектом исследования являлись растения пшеницы (*Triticum aestivum* L.) озимого сорта Мироновская 808, выращенные на питательной среде Хоглэнда - Арнона при температуре 23°C и 16-часовом фотопериоде. В возрасте 28 дней их помещали в условия с пониженной температурой (+3°C, постоянное освещение, 7 суток), а в дальнейшем – с отрицательной температурой (-3°C; 3 дня). Контрольные растения не подвергали действию низких температур. В листьях и корнях растений общепринятыми методами определяли содержание фенольных соединений и уровень ПОЛ.

Установили, что при действии отрицательных температур в листьях пшеницы значительно возрастало содержание растворимых фенольных соединений, в том числе флавоноидов, являющихся доминирующими компонентами фенольного комплекса и обладающими антиоксидантными свойствами. При этом уровень ПОЛ в тканях не менялся, что, вероятно, обусловлено накоплением этих веществ с антиоксидантными свойствами. В корнях растений при действии отрицательных температур не отмечено изменений в содержании фенольных соединений, тогда как интенсивность ПОЛ в них возрастала.

Все это свидетельствует о том, что отрицательные температуры способствуют накоплению фенольных соединений в листьях растений пшеницы, тем самым защищая их от стрессового воздействия.

## **ИЗУЧЕНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ТКАНЕЙ ВЫСШЕГО ВОДНОГО РАСТЕНИЯ (*Egeria densa*) ПОД ДЕЙСТВИЕМ СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ**

Косицына А.А.

ГОУ ВПО «Самарская государственная областная академия (Наянковой)»;  
ул. Молодогвардейская 196, 443001, г. Самара, Самарская область, тел.,  
факс: (846)2424790

E-mail: [a.a.kositsyna@gmail.com](mailto:a.a.kositsyna@gmail.com) (Косицыной А.А.)

Все более актуальной становится проблема загрязнения окружающей среды различными соединениями, проявляющие токсическое действие на биологические объекты. Особенное внимание следует обратить на тяжёлые металлы (ТМ). Многие из них обладают высоким сродством к серосодержащим лигандам и образуют прочные соединения. В связи с этим, основной причиной негативного влияния на живое заключается в том, что они взаимодействуют с SH-группами, инактивируя многие ферменты, вызывая разнообразные нарушения метаболизма клеток.

Целью настоящей работы явилось исследование влияния разных концентраций ионов кадмия и меди (водные растворы нитратов 10 и 100 мкМ) на ферментативную активность (пероксидазная и полифенолоксидазная) тканей *Egeria densa* в течение десятисуточного эксперимента, а также по истечении 5 суток реабилитации (после воздействия ТМ растения переносились в чистую воду).

Нами показано, что присутствие в воде ионов кадмия или меди достоверно влияют на общее состояние растения и ферментативную активность. Оба фермента относятся к классу дыхательных, поэтому принципиально разной ответной реакции на стресс нами не наблюдалось. Более высокое содержание ионов металла в воде оказывает более сильный фитотоксический эффект и в случае продолжительной экспозиции приводит к необратимым последствиям для растения. И после пятисуточной реабилитации не наблюдается сильно заметного улучшения физиологических свойств. В опытах с низкой концентрацией ионов, рассмотренных нами металлов, в среде и последующей реабилитации позволяет растению частично восстановить утраченные функции нормальной жизнедеятельности. Так как медь является для растений микроэлементом, содержание ее ионов в среде (особенно в малых концентрация) оказывает меньшую токсичность на *Egeria densa*, чем аналогичное же присутствие ионов кадмия.

Следует так же обратить внимание, что, в случае с меньшей концентрацией ионов кадмия, ферментативный ответ более растянут по времени и при более длительном периоде экспозиции, реабилитация растений проходит эффективнее, что отражается на повышении активности дыхательного фермента. Возможно, это связано с активацией защитной системы растения, вызванной необходимостью поддержания гомеостаза. Так физиологами описываются, что одной из основных систем защиты является активация «ферментов стресса» (каталазы, пероксидазы). Этот защитный механизм, функционирующий на этапе стрессреакции, обеспечивает выживание организма и его адаптацию в изменившихся условиях среды и является неспецифическим. В нашем эксперименте произошло очень резкое изменение среды, которое повлекло за собой мгновенный ответ. Динамика активности дыхательных ферментов свидетельствует о том, что высокие концентрации металлов (100 мкМ), более существенно влияют на окислительно-восстановительные процессы тканей *Egeria densa*. Даже кратковременное действие ТМ негативно сказывается на жизнедеятельности растения и приводит к необратимым процессам, вплоть до гибели растения.

## **ДЕЙСТВИЕ КАДМИЯ НА АНТИОКСИДАНТНУЮ СИСТЕМУ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР РОДОДЭНДРОНА ЯПОНСКОГО**

Костина В.М., Николаева Т.Н., Чернышева А.В.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая, 35, 127276 Москва, тел.: (495) 977-94-33

E-mail: [v.kostina@mail.ru](mailto:v.kostina@mail.ru)

Одним из наиболее распространенных в природе представителей тяжелых металлов является кадмий, оказывающий значительное влияние на рост, морфологию и метаболизм растений. Возникающий при его действии окислительный стресс сопровождается повышением уровня перекисного окисления липидов (ПОЛ), а также изменением активности ряда ферментов, в том числе супероксиддисмутазы (СОД), относящейся к числу высокомолекулярных антиоксидантов. К низкомолекулярным компонентам защиты клеток от стрессовых факторов относятся фенольные соединения (ФС), принимающие участие в основных процессах жизнедеятельности растений.

В связи с этим целью исследования являлось изучение влияния кадмия на антиоксидантную систему каллусных культур рододендронов, обладающих высокой устойчивостью к действию тяжелых металлов.

Кратковременное действие кадмия (2 часа;  $Cd(NO_3)_2$  в концентрации 15 и 30 мг/л) увеличивало уровень ПОЛ в каллусах *Rh. japonicum* в 2-2,5 раза по сравнению с контролем. Содержание ФС, в том числе флаванов, значительно снижалось при действии низкой концентрации металла, а при более высокой – не менялось. Изменений в активности СОД ни в одном из опытных вариантов не было выявлено, что, вероятно, связано с генетически обусловленной устойчивостью рододендронов к тяжелым металлам и интенсивностью стрессового воздействия.

При длительном культивировании каллусов на средах с кадмием (40 суток) отмечалось повышение накопления ФС, особенно в середине пассажа, по сравнению с контролем. Активность СОД во всех случаях возрастала и коррелировала с действующими концентрациями металла и длительностью воздействия. При этом уровень ПОЛ практически не менялся по сравнению с контролем, а в ряде случаев, даже снижался, что может быть следствием «старения» клеток или их адаптацией к стрессовому фактору.

Таким образом, в каллусных культурах рододендрона при кратковременном действии кадмия ранним проявлением ответной реакции клеток служит изменение уровня ПОЛ, тогда как при длительном – накопление ФС и активность СОД. Все это свидетельствует о том, что защита клеток от окислительного стресса связана с функционированием как высокомолекулярных, так и низкомолекулярных антиоксидантов.

## **ИНФОРМАТИВНОСТЬ БИОФИЗИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ КОРНЯ ПРИ ВЫЯСНЕНИИ ПРИЧИН ТОРМОЖЕНИЯ РОСТА В УСЛОВИЯХ СТРЕССА**

Ктиорова И.Н., Скобелева О.В., Агальцов К.Г.

Агрофизический НИИ Россельхозакадемии; Гражданский пр., 14, 195220 Санкт-Петербург, тел.: (812)5344565, факс: (812)5341900

E-mail: [ktitorov@mail.ioffe.ru](mailto:ktitorov@mail.ioffe.ru) (Ктиоровой И.Н.), [skobeleva@bk.ru](mailto:skobeleva@bk.ru)

Адаптация растения к неблагоприятным условиям среды, как правило, сопровождается изменением темпа роста корней и побегов. В связи с этим, представляет интерес изучение процессов, развивающихся при стрессе в зонах роста. Мы оценивали состояние зоны роста корневой ячменя и пшеницы при действии различных стрессоров, сопоставляя

изменение скорости роста корня и динамику его биофизических параметров: продольной ( $\delta l$ ) и поперечной ( $\delta D/D$ ) растяжимости в зоне роста, гидравлической проводимости мембран ризодермы ( $L_p$ ) и внутрикорневого осмотического давления ( $\Pi$ ). Во всех ситуациях торможение роста корней было связано со снижением  $\delta l$  и, как правило, сопровождалось увеличением  $\Pi$ , приводящим к росту диаметра корня. Ранее мы показали, что УФ-Б облучение побегов ячменя в дозах 3 кДж/м<sup>2</sup> и 10 кДж/м<sup>2</sup> вызывало состояния, соответственно, умеренного и сильного стресса в зонах роста корней. Для умеренного стресса характерно снижение темпа роста в 2-3-раза и уменьшение параметров  $\delta l$ ,  $\delta D/D$  и  $L_p$ . Для сильного стресса - практическая остановка роста, снижение  $\delta l$  и увеличение  $\delta D/D$  и  $L_p$ . Состояние сильного стресса удалось имитировать воздействием на корни Ca<sup>2+</sup>-ионофора иономицина, АБК и антимиотрубочковых агентов. Это позволило предположить, что причиной разнонаправленных изменений  $\delta l$  и  $\delta D/D$  при сильном стрессе является нарушение слоя кортикальных микротрубочек (кМТ) и переориентация микрофибрилл целлюлозы (МФц) в клеточной стенке, вероятно, при участии Ca<sub>цит</sub><sup>2+</sup>. В настоящей работе показано, что переход от умеренного стресса к сильному можно наблюдать в первые сутки действия на корни 1 мМ салицилата, 0,5-1,0 мМ глутамата, 10 мМ NH<sub>4</sub>Cl, 0,1 мМ NiSO<sub>4</sub>, 10 мкМ оризалина. При этом снижению  $\delta l$  сопутствовало начальное уменьшение  $\delta D/D$ , которое сменялось увеличением  $\delta D/D$  относительно контроля. Начальный спад  $\delta D/D$  указывает на развитие неизвестного процесса, препятствующего росту  $\delta D/D$ , ожидаемому при переориентации МФц. Предположили, что этим процессом может быть уплотнение матрикса клеточной стенки, связанное с временной активацией H<sup>+</sup>-помпы, которую можно ожидать вследствие закисления цитозоля при умеренном стрессе. Ранее нами показано, что активация H<sup>+</sup>-помпы с помощью проникающих кислот вызывает снижение  $\delta D/D$  и  $L_p$ , опосредованное закислением апопласта. В настоящей работе показано, что ингибиторы H<sup>+</sup>-помпы вызывают монотонное увеличение  $\delta D/D$ , по-видимому, связанное с ростом Ca<sub>цит</sub><sup>2+</sup> и переориентацией МФц. Сделано заключение, что немонотонная динамика  $\delta D/D$  и  $L_p$  при стрессе может быть связана с активацией H<sup>+</sup>-помпы при умеренном стрессе и ее ингибированием при сильном стрессе, по-видимому, за счет роста Ca<sub>цит</sub><sup>2+</sup>. Таким образом, динамика совокупности биофизических параметров зоны роста корней позволяет дифференцировать состояния умеренного и сильного стресса и косвенно свидетельствует об изменениях гомеостаза H<sub>цит</sub><sup>+</sup> и Ca<sub>цит</sub><sup>2+</sup>, которые требуют дальнейшего подтверждения в эксперименте.



## СВЯЗЬ СКОРОСТИ РОСТА ЛИСТЬЕВ С ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТЬЮ

Кудоярова Г.Р.

Институт биологии, УНЦ РАН, Уфа, пр. Октября, 69, 450054, тел. +73472355362, факс: +73472356247

E-mail: [guzel@anrb.ru](mailto:guzel@anrb.ru)

Механизмы, контролирующие скорость роста растений, интенсивно изучаются, и сведения, накопленные за последнее время, открывают возможности для регуляции этого процесса в нужном для человека направлении. При этом принципиально важно определиться с тем, каким образом, например, при дефиците воды должна меняться скорость роста растений, чтобы повысить их засухоустойчивость. Хорошо известно, что засуха приводит к быстрому торможению роста листьев, что обеспечивает их выживание за счет снижения испарения воды с поверхности мелких листьев. Однако селекция растений по их способности быстро тормозить рост листьев при дефиците воды, оказалась неэффективной в условиях умеренной засухи (Condon et al., 2002). Ряд исследователей отмечают, что в этих условиях более важна способность растений не тормозить, а поддерживать рост, за счет чего быстрее формируется листовое покрытие и снижается испарение воды с поверхности почвы (Collins et al., 2008; Fischer et al., 2010). Способность растений поддерживать рост в условиях засухи связывают с их способностью к осморегуляции и повышением растяжимости клеточной стенки (Xiong et al., 2006; Skirycz et al., 2010). В модельных опытах с помощью датчика роста нами показано, что дефицит воды, вызванный добавлением осмотически активных веществ в питательный раствор растений пшеницы, кукурузы и ячменя, приводил к резкому торможению роста листьев, который затем возобновлялся. Обнаружено, что возобновление роста сопровождалось и, очевидно, было связано с накоплением осмотически активных веществ в зоне роста листьев и повышением их растяжимости. Измерение уровня экспрессии гена *EXP-1*, контролирующего синтез одного из белков семейства экспансинов клеточной стенки, показало, что возобновление роста листа растений кукурузы при дефиците воды происходит после повышения уровня экспрессии гена, что указывает на его участие в поддержании роста в этих условиях. Из данных литературы известно, что под влиянием цитокининов экспрессия генов, кодирующих экспансины, повышается уже через несколько минут (Rashotte et al., 2003; Brenner et al., 2005). Также обсуждается роль цитокининов в качестве возможных

осмосенсоров (De la Pena et al., 2008). В наших опытах мы обнаружили параллелизм в изменении скорости роста и растяжимости листа, в накоплении осмотически активных веществ и изменении и содержания в них эндогенных цитокининов в условиях дефицита воды, что указывает на возможное участие цитокининов в поддержании роста листьев при умеренной засухе. Это предположение подтверждают наши данные о том, что инокуляция ризосферы растений пшеницы цитокинпродуцирующими микроорганизмами повышала содержание в них цитокининов и снижала степень ростигибирующего действия засухи. Предпосевная обработка семян пшеницы данным бактериальным препаратом, поддерживала рост, повышала выживаемость растений и их урожайность в засушливых условиях 2009 и 2010 по сравнению с неинокулированными растениями.

## **ФИТОРЕМЕДИАЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ДЕКОРАТИВНЫХ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ГОРОДСКОЙ СРЕДЫ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ**

Кузина О.Н., Самута В.Ю., Осмоловская Н.Г.

Санкт-Петербургский государственный университет, Биолого-почвенный факультет; Университетская наб. 7/9, 199034 Санкт-Петербург, тел.:(812)3289695, факс:(812)3289703

E-mail: [natalia\\_osm@mail.ru](mailto:natalia_osm@mail.ru) (Осмоловской Н.Г.)

Загрязнение городских почв тяжелыми металлами является серьезной экологической проблемой, что делает актуальным разработку такого приема их реабилитации как фиторемедиации. Учитывая широкое использование для озеленения городских территорий декоративных цветущих однолетних растений, нами были исследованы закономерности аккумуляции ряда ТМ в органах *Tagetes patula*, *Cineraria maritima* и *Calendula officinalis* в условиях загрязнения городской среды и в модельных экспериментах для оценки перспективности их использования в целях фиторемедиации. Показано, что при выращивании на загрязненных почвах центра Санкт-Петербурга растения *Cineraria maritima* аккумулировали в надземных органах Zn, Cu и Pb до соответственно 232, 162 и 32 мкг/г, а *Tagetes patula* – до 170, 50 и 25 мкг/г. В условиях модельной водной культуры при концентрациях ТМ 100–200 мкмоль/л растения накапливали в листьях до 930 мкг/г Zn, но не более 30 мкг/г Pb, в то время как в корнях аккумуляция этих ТМ была намного интенсивнее, особенно в фазу вегетативного роста (по сравнению с фазой цветения), и

достигала соответственно 4950 и 15800 мкг/г. Коэффициент переноса ТМ из корней в надземные органы зависел от внешних концентраций и снижался в ряду  $Zn > Cu >> Pb$ , достигая по  $Zn$  0,2-0,4. В целом аккумуляция  $Zn$  была интенсивнее в надземных органах *Calendula officinales* и *Tagetes patula*, а  $Cu$  – у *Cineraria maritima*. Отмечено, что присутствие повышенных концентраций  $Pb$  в среде вдвое снижало поступление  $Fe$  в растения *Tagetes patula*, тогда как внесение  $Zn$ , напротив, до 2 раз повышало аккумуляцию ими  $Fe$ . Изучение динамики накопления ТМ в органах *Tagetes patula* свидетельствовало, что интенсивное заполнение сайтов связывания ионов ТМ в корнях происходит в течение 1-х суток воздействия, тогда как перераспределение металлов в побег наблюдается на протяжении 7 сут воздействия. Поступление  $Pb$  и  $Zn$ , а также перенос  $Zn$  в листья *Tagetes patula* заметно тормозились при повышении уровня  $K$  и особенно  $P$  в среде выращивания, что может быть связано как с формированием менее подвижных и биодоступных форм ТМ с анионами фосфата, так и с конкуренцией ионов ТМ и  $K^+$  за общие переносчики при поступлении в клетку. Показано, что накопление  $Pb$  и  $Zn$  корнями *Tagetes patula* и перенос этих металлов в надземные органы снижались в присутствии хелаторов цитрата и малата, тогда как поступление  $Cu$  в присутствии цитрата возрастало. В отличие от *Tagetes patula* у *Cineraria maritima* цитрат резко стимулировал перенос  $Cu$  в надземную часть растений, что представляется важным аргументом в пользу перспективности этих растений как возможных фиторемедиаторов почв при  $Cu$  загрязнении в условиях мегаполиса. В условиях  $Zn$  и  $Pb$  загрязнения более высокий фиторемедиационный потенциал продемонстрировали растения *Tagetes patula* и *Calendula officinales*.

## **ВЛИЯНИЕ КАДМИЯ НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ АППАРАТ *Betula pendula* Roth var. *carelica* (Mercklin) Hämet-Ahti IN VITRO**

Кузнецова Т.Ю.\* , Ветчинникова Л.В.\* , Титов А.Ф.\*\* , Таланов А.А.\*\* , Таланова В.В.\*\*

\* Институт леса Карельского научного центра, ул. Пушкинская, 11. 185910, Петрозаводск, тел.: (814-2)768160, факс: (814-2)768160

\*\* Институт биологии Карельского научного центра, ул. Пушкинская, 11. 185910, Петрозаводск, тел.: (814-2)762712, факс: (814-2)769810

E-mail: [vetchin@krc.karelia.ru](mailto:vetchin@krc.karelia.ru) (Ветчинниковой Л.В.)

В лабораторных условиях исследовали побеги карельской березы *Betula pendula* Roth var. *carelica* (Mercklin) Hämet-Ahti, полученные из

апикальной меристемы и ее производных. При проведении опытов *in vitro* в питательную среду добавляли уксуснокислый кадмий ( $\text{Cd}^{+2}$ ) в концентрациях  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  или  $10^{-3}$ М. Экспозиция при постановке опытов составляла 30 сут. Интенсивность фотосинтеза измеряли с помощью портативной системы НСМ-1000, а содержание пигментов – спектрофотометрически.

Исследования показали, что в условиях культуры *in vitro* увеличение концентрации ионов кадмия в питательной среде в целом приводило к ингибированию процессов морфо- и органогенеза, степень которого зависела от концентрации металла. Присутствие кадмия в концентрации  $10^{-3}$ М оказалось критическим. Наряду с этим, выявлено небольшое стимулирующее действие кадмия в низких концентрациях ( $10^{-6}$ М) на рост и развитие побегов.

Опыты также показали, что кадмий вызывает определенные нарушения в работе фотосинтетического аппарата побегов березы *in vitro*, которые визуальным образом проявлялись в изменении размеров листовых пластинок, их числа и хлорозе.

В изученном диапазоне концентраций ( $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$ М) несмотря на стимулирующий эффект кадмия на рост и развитие побегов в самой низкой из них, было зафиксировано постепенное снижение содержания хлорофилла *a*, хлорофилла *b* и суммы каротиноидов в листьях березы, зависящее от применяемой концентрации металла. Особенно заметно это проявилось в отношении суммы хлорофиллов.

Наибольший ингибирующий эффект кадмия проявился в отношении фотосинтеза. Даже при его использовании в концентрации  $10^{-6}$ М интенсивность  $\text{CO}_2$ -газообмена снижалась почти на 15%, а при  $10^{-5}$ М – на 30%. Под влиянием кадмия в концентрации  $10^{-4}$ М фотосинтез практически прекращался. По всей вероятности, это связано с тем, что металл вызывал инактивацию кислородовыделяющего центра фотосистемы II и замедление электронного транспорта (Atal et al., 1991; Титов и др., 2007 и др.).

Таким образом, проведенные исследования показали, что отрицательное влияние кадмия на жизнедеятельность карельской березы *in vitro* связано с целым комплексом морфо-физиологических изменений: замедлением процессов роста и развития, ингибированием процесса фотосинтеза, снижением содержания фотосинтетических пигментов.

## **РОСТ, НАКОПЛЕНИЕ МЕДИ И СОСТОЯНИЕ БЕЛКОВ АКТИНОВОГО ЦИТОСКЕЛЕТА В КЛЕТКАХ КОРНЕЙ СОИ ПРИ ИЗБЫТОЧНОМ СОДЕРЖАНИИ МЕДИ В СРЕДЕ**

Кузнецова Н.А., Куликова А.Л.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая 35, 127276, Москва, тел:(495) 231 8367, факс:(495) 977 8018

E-mail: [qwer1131@yandex.ru](mailto:qwer1131@yandex.ru), [akulikova05@mail.ru](mailto:akulikova05@mail.ru)

Изучали токсическое действие 10 мкМ  $\text{CuSO}_4$  на состояние корней двухнедельных проростков сои (*Glycine max* L). Избыток ионов меди ингибировал рост корня, изменял его морфологию, вызывал нарушение целостности мембран и образование продольных и поперечных трещин в поверхностных слоях клеток концевых участков корня. Признаки повреждения клеток, свидетельствующие об увеличении перекисного окисления липидов мембран (окрашивание кончиков корня реагентом Шиффа и увеличение в 2-3 раза количества малонового диальдегида в гомогенатах корней), были заметны при содержании меди около 50 мкг/г сухой массы корня, что примерно вдвое превосходило норму. Двукратное увеличение проницаемости мембран клеток корня для Эванса синего отмечалось при содержании меди в корне около 150 мкг/г сухой массы. За 5 дней опыта содержание меди в корнях возрастало почти в 10 раз и длина корней уменьшалась на 60-70 % по сравнению с контролем. При этом на кончиках боковых корней образовывались вздутия, причиной которых возможно, являлось ингибирование роста растяжением клеток кончика корня. Присутствие 10 мкМ  $\text{CuSO}_4$  в среде не мешало закладке боковых корней, которые появлялись на расстоянии 1-5 мм от начала корня, но значительно ингибировало удлинение этих корней.

Известно, что актиновый цитоскелет является одним из основных компонентов механизма роста растительных клеток. С другой стороны, перестройки актинового цитоскелета могут играть важную роль в адаптации растений к неблагоприятным условиям окружающей среды. Нами было показано, что через 6 часов роста растений на среде, содержавшей 10 мкМ  $\text{CuSO}_4$ , накопление меди в корне возрастало в 3 раза, что сопровождалось увеличением количества актина в составе цитоскелетной сети, выделенной из гомогенатов корней (осадок 13000г) и во фракции полимерного актина (осадок 100 000г). В осадках, наряду с актином, содержался белок, реагирующий с анти-спектриновыми антителами. Спектрин

является белком актинового цитоскелета, связывающим полимерный актин с белками мембран. В животных клетках показано участие спектрина в функционировании сигнальных систем, регуляции механических свойств мембран и везикулярном транспорте; свойства растительного спектрина практически не изучены. Возможно, одной из причин ингибирования роста клеток корня при действии избытка меди являются изменения функций и организации актинового цитоскелета.

## **МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ УСТОЙЧИВОСТИ БОБОВЫХ РАСТЕНИЙ К ТОКСИЧНОМУ ДЕЙСТВИЮ КАДМИЯ**

Кулаева О.А.\* , Жернаков А.И.\* , Ким В.Е.\* , Демченко К.Н.\*\*\*, Цыганова А.В.\* ,  
Цыганов В.Е.\*

\* Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии Россельхозакадемии; ш. Подбельского, 3, 196608, Пушкин 8, Санкт-Петербург, тел.: (812)4761601, факс: (812)4704362

\*\* Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН; ул. проф. Попова, 2, 197376, Санкт-Петербург, тел.: (812)2746687, факс: (812)3463643

E-mail: [tsyganov@arriam.spb.ru](mailto:tsyganov@arriam.spb.ru)

Исследования молекулярно-генетических и клеточных механизмов устойчивости бобовых к кадмию (Cd) представляют большой практический интерес для разработки теоретических основ создания растительно-микробных систем для фиторемедиации почв. В исследования были вовлечены горох посевной (*Pisum sativum*): исходная линия SGE и мутант SGEcd<sup>t</sup>, характеризующийся повышенной устойчивостью к кадмию, люпин узколистый (*Lupinus angustifolius*) и два вида модельных бобовых: *Medicago truncatula* и *Lotus japonicus*. Было показано, что проанализированные виды отличаются по влиянию Cd на нитрогеназную активность. Исследования устойчивости гороха к Cd связаны с дальнейшим изучением мутанта SGEcd<sup>t</sup>, характеризующегося повышенными устойчивостью к Cd и способностью к его аккумуляции. С использованием световой, электронной и конфокальной микроскопии было выявлено, что мутант способен поддерживать гистологическую и ультраструктурную организацию клубеньков, а также организацию митотических и кортикальных микротрубочек при более высоких концентрациях Cd, чем исходная линия. С использованием сканирующей

электронной микроскопии совмещенной с энергодисперсионным анализом элементного состава образцов кадмий был выявлен в больших количествах в клеточных стенках клеток эпидермы, коры и перицикла у исходной линии SGE, чем у мутанта SGEcd<sup>t</sup>. С использованием ПЦР в реальном времени был показан пониженный уровень индукции экспрессии двух генов, кодирующих фенилаланинаммоний-лиазу *PAL1* и *PAL2*, у мутанта SGEcd<sup>t</sup>, по сравнению с исходной линией SGE, что подтверждает ранее полученные данные о сниженном уровне активации защитных систем у мутанта. Детальная локализация гена *cdt* на генетической карте в VI группе сцепления гороха открывает путь для его дальнейшего клонирования.

Данная работа была поддержана РФФИ (08-04-01656-а; 08-04-90051-Бел\_а), Министерством образования и науки РФ (ГК П290, ГК П1746), Администрацией Санкт-Петербурга (грант 2010 г.).

## **ГЕНЕТИЧЕСКИЙ И ЦИТОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МУТАНТА ГОРОХА (*Pisum sativum* L.) SGEcd<sup>t</sup>, ХАРАКТЕРИЗУЮЩЕГОСЯ ПОВЫШЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К КАДМИЮ**

Кулаева О.А.<sup>1</sup>, Хютти А.В.<sup>2</sup>, Цыганов В.Е.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии Россельхозакадемии; ш. Подбельского, 3, 196608, Пушкин 8, Санкт-Петербург, тел.: (812)4761601, факс: (812)4704362

<sup>2</sup> Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений Россельхозакадемии; ш. Подбельского, 3, 196608, Пушкин 8, Санкт-Петербург, тел.: (812) 4704384, факс: (812) 4705110

E-mail: [koa1983@yandex.ru](mailto:koa1983@yandex.ru) (Кулаевой О.А.), [tsyganov@arriam.spb.ru](mailto:tsyganov@arriam.spb.ru) (Цыганову В.Е.)

Изучение молекулярно-генетических и клеточных механизмов устойчивости к тяжелым металлам и их накопления является одной из актуальных проблем современной биологии растений. Недавно у гороха был описан новый уникальный мутант SGEcd<sup>t</sup>, характеризующийся повышенными накоплением кадмия в биомассе растений и устойчивостью к токсичным концентрациям данного тяжелого металла, по сравнению с исходной линией (Tsyganov et al., 2007). В ходе изучения особенностей данного мутанта было показано, что мутантная линия способна поддерживать организацию митотических и кортикальных микротрубочек при концентрации кадмия, вызывающей их деполимеризацию у исходной линии. Была выявлена существенная

разница в проявлении фенотипа устойчивости в зависимости от времени воздействия различных концентраций кадмия у исходной линии SGE и мутанта SGE $Cd^t$ . Исследования распределения кадмия по тканям и клеточным компартментам, позволили предположить, что у линии SGE системы детоксикации кадмия работают недостаточно эффективно, что приводит к ингибированию развития корневых систем. У мутанта SGE $Cd^t$ , устойчивого к кадмию, вероятно, присутствует эффективный путь детоксикации кадмия, заключающийся в усиленном транспорте кадмия в проводящую систему и далее в побеги, где он накапливается в листьях. С использованием маркеров, основанных на последовательностях известных генов гороха, был выявлен участок 6 группы сцепления гороха, ограниченный генами *S27E* (Ribosomal protein S27E) и *PsKn* (Pisum sativum knotted I class homeodomain protein), в котором предполагается дальнейшая локализация локуса *cdt*. Результаты данного исследования будут важны для разработки теоретических основ создания эффективных растительно-микробных систем для очистки почв загрязненных кадмием.

Данная работа была поддержана РФФИ (08-04-01656-а; 08-04-90051-Бел\_а), Министерством образования и науки РФ (ГК П290, ГК П1746), Администрацией Санкт-Петербурга (грант 2010 г.).

## **ИЗМЕНЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА МОЛЕКУЛЯРНЫХ ШАПЕРОНОВ СЕМЕЙСТВА БТШ70 В КОРНЯХ ХРУСТАЛЬНОЙ ТРАВКИ ПРИ ДЕЙСТВИИ АБИОТИЧЕСКИХ СТРЕССОРОВ**

Куликова А.Л., Кузнецова Н.А., Волков К.Б., Холодова В.П., Кузнецов Вл.В.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая, 35, 127276, Москва, тел: (499)2318367, факс: (495)9778018

E-mail: [akulikova05@mail.ru](mailto:akulikova05@mail.ru)

Ранее нами было установлено, что присутствие в среде хлористого натрия способно значительно нивелировать токсический эффект высоких концентраций меди. При этом стабилизировались основные показатели водного статуса растения, сохранялась способность к активной аккумуляции биомассы. Отчасти подобный эффект мог быть объяснен резко возросшим внутриклеточным уровнем пролина, который в данном случае, по-видимому, играл роль полифункционального химического шаперона. Однако молекулярные механизмы обнаруженного явления



оставались не выясненными. В связи с этим было решено исследовать функционирование защитных систем растений хрустальной травки на более глубоком уровне. Белки теплового шока (БТШ) хорошо известные шапероны, синтез которых вызывается целым рядом стрессоров, таких как высокие температуры, засуха, засоление и высокие концентрации тяжелых металлов.

БТШ70 являются основным компонентом эволюционно консервативной системы защиты от различных повреждающих факторов. В группу цитозольных БТШ70 входят конститутивно синтезируемый белок БТШ70к (HSC70) и индуцибельный компонент БТШ70и (HSP70). Нами установлено, что добавление в питательную среду 200 мМ NaCl, или 50 мкМ CuSO<sub>4</sub> приводило к увеличению количества экстрагируемых белков, реагирующих с антителами против БТШ70и. Увеличение отмечалось при 6 часовом воздействии на корни растений повреждающих факторов и сохранялось в течение суток.

Совместное действие засоления и избытка меди не приводило к дополнительному увеличению количества БТШ70и. Реакция на стресс другой формы белка семейства БТШ70 была отличной. Засоление значительно повышало уровень белков, реагирующих с антителами против БТШ70к. Избыток меди не влиял на увеличение количества БТШ70к, но при добавлении меди на фоне предварительного внесения 200 мМ NaCl, содержание белка несколько возрастало. Обе формы белка семейства БТШ70 находились как в растворимой фракции корневого гомогената, так и в форме, предположительно связанной с актиновым цитоскелетом.

Таким образом, полученные к настоящему моменту данные позволяют рассматривать БТШ как один из важнейших компонентов системы адаптации растений к действию меди в условиях засоления. По-видимому, БТШ, индуцированные хлористым натрием на фоне высоких концентраций ТМ, принимают активное участие как в стабилизации макромолекул, что является необходимым фактором поддержания нормального гомеостаза, так и, возможно, непосредственно связывают ионы меди, выступая в роли хелаторов на начальных стадиях поглощения ТМ, когда основные системы хелатирования только начинают функционировать.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 10-04-00799-а, 10-04-90456-УКР\_а и Программы Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология».

## **CO<sub>2</sub>-КОНЦЕНТРИРУЮЩИЙ МЕХАНИЗМ АЛКАЛОФИЛЬНЫХ ЦИАНОБАКТЕРИЙ СОДОВЫХ ОЗЕР: АРТЕФАКТ ИЛИ НЕОБХОДИМОСТЬ?**

Куприянова Е.В., Пронина Н.А.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая, 35, 127276 Москва, тел.: (499)2318334, факс: (495)9778018

E-mail: [ivlaanov@mail.ru](mailto:ivlaanov@mail.ru) (Куприяновой Е.В.)

На протяжении 3.5 млрд. лет – со времени возникновения кислородного фотосинтеза у цианобактерий – концентрация CO<sub>2</sub> в атмосфере Земли неуклонно снижалась одновременно с повышением содержания в ней кислорода. В результате около 400 млн. лет назад возникла критическая ситуация для всех фотосинтетических организмов: CO<sub>2</sub> стал лимитирующим ресурсом, а оксигеназная реакция РБФК/О приобрела статус серьезной проблемы. Преодолеть ситуацию можно было двумя путями: 1) увеличить количество ключевого фермента фиксации CO<sub>2</sub> – РБФК/О и ее сродство к диоксиду углерода: по этому пути пошло большинство растений C<sub>3</sub>-типа; 2) увеличить внутриклеточную концентрацию CO<sub>2</sub> – то есть, создать CO<sub>2</sub>-концентрирующий механизм. Эта стратегия привела к появлению C<sub>4</sub>- и САМ-метаболизма. Перед цианобактериями, вклад которых в преобразование ранней атмосферы был наиболее существенный, также встала задача сохранения эффективности фотосинтеза. Наряду с другими водными C<sub>3</sub>-фотосинтетиками – микроводорослями, придерживаясь второй адаптационной стратегии, цианобактерии «изобрели» CO<sub>2</sub>-концентрирующий механизм, отличный от C<sub>4</sub>- и САМ-путей, известный сейчас под аббревиатурой ССМ (от англ. – «carbon concentration mechanism»). Работу ССМ обеспечивает фермент карбоангидраза (КА, КФ 4.2.1.1) совместно с переносчиками соединений неорганического углерода (C<sub>i</sub>). В результате их слаженной работы в районе активного сайта РБФК/О создается концентрация CO<sub>2</sub>, в 1000 раз превышающую таковую в среде, окружающей клетку. КА участвует во всех этапах ССМ (поглощение C<sub>i</sub>, предотвращение утечки C<sub>i</sub> из клетки, внутриклеточное преобразование форм C<sub>i</sub>). С точки зрения изучения появления и эволюции ССМ особенный интерес представляют алкалофильные цианобактерии содовых озер. С одной стороны, микробные сообщества, к которым они принадлежат, считаются реликтами древней наземной микробиоты, превратившей восстановительную атмосферу протерозоя в современную окислительную. С другой стороны, будучи вытесненными появившимися эукариотами с привычных мест обитания в экологические ниши с экстремальными условиями, цианобактерии содовых озер развиваются в среде с высоким

содержанием бикарбоната, не требующей создания или поддержания ССМ. Нитчатая цианобактерия *Microcoleus chthonoplastes* является представителем алкалофильных сообществ содовых озер. Исследованная нами организация КА системы этого организма представляет интерес для понимания эволюции ССМ и эволюционных взаимодействий отдельных классов КА.

## **УЛЬТРАСТРУКТУРА КЛЕТОК ОРГАНОВ ГАЛОФИТОВ, РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ ПО ОРГАНИЗАЦИИ ДАЛЬНЕГО ТРАНСПОРТА Na<sup>+</sup> и Cl<sup>-</sup>**

Куркова Е.Б.\*, Халилова Л.А.\*, Мясоедов Н.А.\*, Жамалетдинов Н.К.\*,  
Бабаков А.В.\*\*\*, Балнокин Ю.В.\*

\* Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая 35,  
127276 Москва, тел.: (495) 9779218, факс: (495)9778018

\*\*\* ГНУ ВНИИ Сельскохозяйственной биотехнологии РАСХН; ул. Тимирязевская 42,  
127550 Москва, тел.: (495)9770938, факс: (495)9770947

E-mail: [Lhalilova@mail.ru](mailto:Lhalilova@mail.ru) (Халиловой Л.А.).

По организации дальнего транспорта Na<sup>+</sup> и Cl<sup>-</sup> галофиты делят на несколько типов. Тот или иной тип реализуется через определенное соотношение активностей ионных транспортеров, функционирующих в разных органах и тканях. Предполагается, что наряду с различиями в путях движения Na<sup>+</sup> и Cl<sup>-</sup> по растению и разным распределением Na<sup>+</sup> и Cl<sup>-</sup> по органам, тканям и органеллам, разные типы различаются также анатомическим строением органов и ультраструктурной организацией клеток. Цель настоящей работы состояла в сравнительном исследовании ультраструктуры клеток и распределения Na<sup>+</sup> и Cl<sup>-</sup> по органам у двух галофитов *Suaeda altissima* и *Thellungiella salsuginea*. Эксперименты были проведены на растениях, выращенных в условиях водной культуры. Установлено, что при одних и тех же концентрациях NaCl в питательном растворе содержание Na<sup>+</sup> и Cl<sup>-</sup> в органах *S. altissima* значительно выше, чем содержание этих ионов в органах *Th. salsuginea*. Так, при наружной концентрации NaCl 250 мМ, содержание Na<sup>+</sup> в корнях и листьях *Th. salsuginea* составляло 100 и 170 ммоль/кг сыр. массы, а содержание Cl<sup>-</sup> - 55 и 65 ммоль/кг сыр. массы, соответственно. При той же концентрации NaCl в питательном растворе в корнях и листьях *S. altissima*, содержание Na<sup>+</sup> было 200 и 450 ммоль/кг сыр. массы, Cl<sup>-</sup> - 220 и 350 ммоль/кг сыр. массы, соответственно. Полученный результат

согласуется с данными, свидетельствующими о принадлежности *S. altissima* к группе соленакапливающих галофитов (Балнокин и др., 2004), а *Th. salsuginea* к группе солеисключающих галофитов (Wang et al., 2006). Электронно-микроскопическое исследование показало, что клетки листьев *S. altissima* в условиях засоления интенсивно формируют обращенные в вакуоль пиноцитозные инвагинации, из которых в дальнейшем образуются мультивезикулярные тела (МВТ). Использование цитохимического метода определения  $\text{Cl}^-$  показало наличие  $\text{Cl}^-$  в МВТ. С помощью МВТ ионы  $\text{Cl}^-$  загружаются в вакуоли. При этом они могут транспортироваться в вакуоль как из цитоплазмы, так и из апопласта. У *Th. salsuginea*, в отличие от *S. altissima*, образующиеся пиноцитозные инвагинации в клетках листьев не отшнуровывались с образованием МВТ, а оставались в цитоплазме. Попытки обнаружить ионы  $\text{Cl}^-$  цитохимическим методом в клетках корней и листьев *Th. salsuginea* оказались безуспешными. По-видимому, концентрации  $\text{Cl}^-$  в клетках *Th. salsuginea* были ниже чувствительности цитохимического метода определения  $\text{Cl}^-$ .

Работа поддержана грантом РФФИ №09-04-00709-а.

## **ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ МЫШЬЯКА НА РОСТОВЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ (*Triticum aestivum* L.)**

Курманбаева А.С., Сафронова Н.М.

Кокшетауский государственный университет им. Ш. Уалиханова; ул. Абая, 76, 020000 Кокшетау, Казахстан, тел.: (716-2) 255583, факс: (716-2) 255583

E-mail: aygul6868@mail.ru (Курманбаевой А.С.), safronat@rambler.ru (Сафроновой Н.М.)

Одной из актуальных проблем загрязнения почв Акмолинской области является проблема регионального техногенного загрязнения мышьяком и сопутствующих ему тяжелых металлов. Оценка содержания тяжелых металлов в почвах г. Кокшетау показала, что содержание мышьяка в почвенных образцах превышало ПДК от 3,3 до 23,5 раза и варьировало от 6,6 мг/кг до 47,0 мг/кг.

В эксперименте исследовалось влияние различных концентраций мышьяка на всхожесть семян и ростовые показатели растений яровой пшеницы сорта Омская 17.

Семена пшеницы стерилизовали 16% раствором перекиси водорода, проращивали в чашках Петри на фильтровальной бумаге смоченной

раствором арсенита натрия в концентрациях 1,6; 3,1; 6,3; 12,5; 15,0; 25,0; 50,0; 100,0 мг/л. В контрольном варианте бумагу смачивали дистиллированной водой. Всхожесть семян выражали в процентах к контролю.

Было установлено, что при концентрации As в среде от 1,6 мг/л As до 15,0 мг/л As всхожесть семян пшеницы существенно повышалась на 9,3-18,3% по сравнению с контролем. В диапазоне концентраций мышьяка от 15 до 25 мг/л начинает проявляться его токсичное действие. Всхожесть семян пшеницы при содержании As в среде 50 мг/л As и 100 мг/л As была нулевой.

Ростовые показатели растений оценивались на 5-й день прорастания семян пшеницы. Использовались дозы мышьяка от 1,6 до 25 мг/л. Измеряли высоту надземных органов, длину корней, сухую биомассу органов растений.

Мышьяк в концентрациях 1,6-15 мг/л подавлял ростовые параметры на 15-25% по сравнению с контролем. При концентрации As 25,0 мг/л длина корней была меньше в 4,8 раза, а высота надземной части в 2,3 раза ниже, чем в контроле. Увеличение концентрации до 25,0 мг/л привело к резкому снижению длины корней (на 80%), длину надземной части проростков (на 56%) при сохранении образования корней на уровне 85%.

При увеличении дозы As с 1,6 мг/л до 3,1 мг/л наблюдалось уменьшение сухой биомассы растений пшеницы по отношению к контролю на 11% и 32% соответственно, при концентрации 25 мг/л на 49% – почти в 2 раза. В то же время биомасса корней превышала контроль на 2% – 14% при концентрациях As 6,3; 12,5 и 15,0 мг/л.

Таким образом, несмотря на то, что мышьяк в низких дозах стимулирует прорастание семян, в дальнейшем проявляется его токсическое действие на ростовые процессы.

## **КРОСС-АДАПТАЦИЯ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ К ДЕЙСТВИЮ КРАТКОВРЕМЕННЫХ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНЫХ ОБРАБОТОК И ЗАРАЖЕНИЮ КАРТОФЕЛЬНОЙ ЦИСТООБРАЗУЮЩЕЙ НЕМАТОДОЙ**

Лаврова В.В., Сысоева М.И., Матвеева Е.М., Шерудило Е.Г., Топчиева Л.В.

Институт биологии Карельского научного центра РАН; ул. Пушкинская, 11, 185910 Петрозаводск, тел.: (8142)762706, факс: (8142)769810

E-mail: [vicandra@mail.ru](mailto:vicandra@mail.ru) (Лавровой В.В.)

Вегетационный период в северных широтах характеризуется нестабильностью климата, сопровождающейся резкими колебаниями

температур в суточном цикле, особенно в ранневесенний период (Филатов и др., 2003). Помимо неблагоприятного температурного режима в начальный период вегетации растения подвержены заражению. В частности, облигатным седентарным эндопаразитом корневой системы картофеля является картофельная цистообразующая нематода (КЦН) *Globodera rostochiensis* (Woll.), вызывающая снижение продуктивности и ухудшение качества клубней. Механизмы кросс-адаптации к кратковременным низкотемпературным воздействиям и заражению КЦН остаются неясными. Исследование выполнено на двух сортах картофеля (*Solanum tuberosum* L.): с. Невский, восприимчивом к заражению КЦН, и устойчивом с. Сударыня. Растения выращивали 7 суток при температуре 23°C и фотопериоде 12 ч, а затем в течение 6 суток подвергали ежесуточному снижению температуры до 5°C на 2 ч в конце ночи (ДРОП) или оставляли при оптимальных условиях (контроль). Далее растения каждого варианта делили на две группы, одну из которых заражали КЦН (10 цист/раст.), а другую выращивали без заражения в оптимальных условиях. Устойчивость растений к паразиту определяется наличием генов устойчивости (R-генов), способных распознавать метаболиты патогена и своевременно запускать защитные механизмы. К настоящему времени клонированы два гена устойчивости картофеля к *G. rostochiensis*: *H1* и *Gro1-4* (Williamson, Kumar, 2006). Относительный уровень экспрессии генов *H1* и *Gro1-4* оценивали методом ПЦР-анализа в режиме реального времени. Холодоустойчивость растений определяли по методу ЛТ<sub>50</sub> (Дроздов и др., 1976). Установлено, что предобработка кратковременными низкотемпературными воздействиями вызвала повышение холодостойкости устойчивых и восприимчивых к заражению КЦН растений картофеля. Контрольные и опытные растения устойчивого к заражению с. Сударыня не подверглись инфицированию КЦН. У растений восприимчивого с. Невский уровень заражения в варианте ДРОП снизился по сравнению с контролем в 3 раза. Результаты ПЦР-анализа показали, что кратковременная периодическая обработка растений низкими температурами повысила уровень экспрессии R-генов *H1* и *Gro1-4* у обоих сортов. Однако у восприимчивого сорта уровень экспрессии *H1* был выше, чем *Gro1-4*. Полученные данные позволяют предположить, что снижение заражения восприимчивого сорта картофеля, вызванное температурной ДРОП-обработкой, может быть связано с увеличением уровня экспрессии R-гена *H1*.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ (№ 08-04-98833\_север, № 10-04-00097).

## **АДАПТАГЕННОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРОИЗВОДНЫХ ФЕНИЛМОЧЕВИНЫ НА ФОРМИРОВАНИЕ ПРОДУКТИВНОСТИ РАСТЕНИЙ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ**

Ламан Н.А., Мендель Д.Д., Калацкая Ж.Н.

ГНУ «Институт экспериментальной ботаники им.В.Ф.Купревича НАН Беларуси»; ул. Академическая 27, 220072 Минск, тел. (37517)2842033, факс (37517)2841853

E-mail: [kalatskayaj@mail.ru](mailto:kalatskayaj@mail.ru)

Полигенность признаков устойчивости в абиотическим факторам и неспособность современной геномной инженерии манипулировать одновременно несколькими генами являются основными причинами, объясняющими отсутствие коммерческих стресс-толерантных сортов растений (Кузнецов Вл.В., 2009). В этой связи весьма перспективными представляются подходы по использованию природных и синтетических соединений адаптогенного действия для повышения устойчивости растений к повреждающим факторам внешней среды.

Работа посвящена экспериментальному обоснованию возможности применения производных мочевины – тиомочевины, дифенилмочевины и дифенилтиомочевины, известных как соединения с цитокининовой активностью (Кулаева О.Н., 1973), для инкрустации семян с использованием в качестве пленкообразователя поливинилацетата с целью повышения устойчивости растений к абиотическим стрессорам. Обработанные семена ярового ячменя сорта Бровар высеяны в начале мая в полевом мелкоделяночном опыте для определения морфофизиологических показателей в течение вегетационного сезона и конечной зерновой продуктивности растений. Погодные условия лета 2010 года характеризовались среднесуточной температурой воздуха на 5-10° превышающей среднегодовые показатели. Осадки носили ливневый характер со шквалистым усилением ветра. Анализ образцов растений ярового ячменя в этих условиях в фазе полного кущения показал, что процесс побегообразования активнее проходил у растений, сформированных из семян, обработанных тиомочевиной и дифенилтиомочевиной. В фазе колошения основное внимание было уделено состоянию ассимилирующего аппарата растений, т.е. массе активно функционирующих листьев и длине флагового листа главного побега. Высокие значения объема ассимиляционного аппарата отмечены в варианте обработки семян тиомочевиной и дифенилтиомочевиной, где зарегистрировано увеличение накопления сухой биомассы растениями, длины влагища флагового листа, являющегося у ярового ячменя важным источником пластических веществ для колоса, и сохранность большого количества фотосинтезирующих листьев на растении.

В стрессовых условиях, сложившихся в период формирования урожая яровых культур, производные мочевины, особенно тиомочевина, проявили ярко выраженное адаптогенное действие, в первую очередь благодаря сохранению функциональной активности ассимиляционного аппарата растений. Это способствовало формированию высокой массы колоса, в том числе и массы тысячи зерен, даже при большем количестве побегов кущения в опытных вариантах по сравнению с контрольными растениями. Обработка производными мочевины позволила без применения средств защиты растений получить достоверную прибавку урожая 4,9 ц/га по сравнению с 45,9 ц/га в контрольном варианте.

## **ПРЕДОБРАБОТКА МЕТИЛЖАСМОНОМ ПОВЫШАЕТ УСТОЙЧИВОСТЬ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ К ЗАСОЛЕНИЮ**

Ласточкина О.В., Сахабутдинова А. Р., Сомов К.А., Шакирова Ф.М.

Институт биохимии и генетики УНЦ РАН; ул. Пр. Октября, 71, 450054 Уфа, тел.: (3472)2356088, факс: (3472)2356088

E-mail: [oksanaibg@gmail.com](mailto:oksanaibg@gmail.com) (Ласточкина О.В.)

Жасмоновая кислота (ЖК) и ее производное метилжасмонат (МЖ) являются эндогенными регуляторами роста и развития растений. Особое внимание к жасмонатам было вызвано выявлением их ключевой роли в запуске индуцированной системной устойчивости растений в ответ на поранение, атаку патогенов и вредителей. Вместе с тем, сейчас уже не вызывает сомнения факт участия жасмонатов в регуляции устойчивости растений и к абиотическим стрессовым факторам среды. Известно, что засоление оказывает сильный повреждающий эффект на растения вследствие развития окислительного стресса и нарушения водного режима. Цель работы заключалась в анализе влияния предобработки 0.1 мкМ МЖ на устойчивость растений пшеницы к натрий - хлоридному засолению. Так, в ходе экспериментов было выявлено, что воздействие 2 % NaCl на растения пшеницы приводило к существенному накоплению в них осмопротектанта пролина, тогда как в предобработанных МЖ проростках уровень стресс-индуцированного накопления пролина был заметно меньшим, по-видимому, вследствие проявления МЖ предадаптирующего действия на растения к последующему воздействию стрессора. В пользу этого предположения свидетельствуют и данные о сниженном



уровне в предобработанных МЖ проростках накопления малонового диальдегида (МДА), конечного продукта перекисного окисления липидов, в сравнении с необработанными гормоном и, следовательно, предобработка МЖ способствует ослаблению развития окислительного стресса в проростках пшеницы. Известно, что важное значение в защите растений от поступления и распространения токсических ионов, включая и ионы натрия, играет укрепление барьерных свойств клеточной стенки, основным структурным элементом которого является лигнин. В связи с этим, большой интерес представляло исследование влияния МЖ на отложение лигнина в клеточных стенках базальной части корней проростков пшеницы в условиях засоления. Нами выявлено, что засоление ускоряло лигнификацию клеточных стенок центрального цилиндра корней в сравнении с контролем, тогда как в корнях предобработанных МЖ проростков этот процесс шел заметно интенсивнее. Совокупность полученных данных свидетельствует о способности МЖ оказывать защитный эффект на растения в условиях засоления среды, что отражается в существенном снижении уровня рост-ингибирующего действия хлорида натрия у МЖ-предобработанных проростков пшеницы.

## **ВЛИЯНИЕ ДОЛГОВРЕМЕННОГО ХРАНЕНИЯ КОРНЕПЛОДОВ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ (*Beta vulgaris* L) НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ МИТОХОНДРИЙ**

Лаштабега Д.А., Шугаев А.Г.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева, РАН, г. Москва (127276, Москва, ул. Ботаническая, 35, тел.: (499)231-83-40, факс: (495)977-80-18

E-mail: ag\_shugaev@ippras.ru

Ранее нами было показано изменение метаболической активности митохондрий корнеплода в ходе онтогенеза растений. Продолжая изучение физиологических изменений митохондрий в ходе онтогенеза мы определили активность ряда ферментов антиоксидантной защиты: супероксиддисмутазы (MnСОД), аскорбатпероксидазы (АПО), глутатионредуктазы (ГР) и каталазы в митохондриях растущих (возраст 75-90 дней) и зрелых корнеплодов, хранящихся при низкой положительной температуре (4-5°C) в течение 2-6 мес. Результаты исследований показали, что после 2-3 мес хранения корнеплодов

активности ключевых ферментов аскорбат-глутатионового цикла, участвующих в детоксикации  $H_2O_2$  в митохондриях покоящегося корнеплода заметно возрастали по сравнению с растущим: АПО (соответственно 370 и 200 нмоль АК/(мин мг белка), а ГР (140 и 50 нмоль НАДФН/(мин мг белка), при более длительном (4-6 мес) хранении корнеплода активность этих ферментов менялась незначительно. Наоборот, активность СОД, составляющая в период роста корнеплода около 70-90, после 2-3 мес хранения корнеплодов заметно снижалась и составляла около 30Е/мг белка. При более длительном хранении корнеплодов (4-6 мес) активность СОД продолжала снижаться (до 4-10 Е/мг белка). Довольно редко встречаемым антиоксидантным ферментом митохондрий растений является каталаза, ранее было показано ее наличие только в листьях кукурузы. Нами была обнаружена довольно высокая активность каталазы (более 2Е/мг белка) в митохондриях корнеплода, очищенных в градиенте плотности сахарозы, которая практически не менялась в процессе роста и хранения запасующих органов.

Анализируя полученные данные, можно заключить, что ферментативная система антиоксидантной защиты митохондрий изменяется в ходе онтогенеза, реагируя, по-видимому, на изменения напряженности энергетического обмена. В растущем корнеплоде митохондрии сильно энергизованы, поэтому высокая активность СОД, необходима для инактивации супероксида, генерируемого дыхательной цепью. Энергизованность митохондрий хранящегося корнеплода значительно снижена, что предполагает снижение активности антиоксидантных ферментов, в частности СОД. Возможно, что активация в этот период АПО и ГР, а также высокая активность каталазы необходимы для защиты митохондрий покоящегося корнеплода от немитохондриальной (цитозольной)  $H_2O_2$ .

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант №07-04-01516).

## **ВВЕДЕНИЕ ГЕНА ВАКУОЛЯРНОГО Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>-АНТИПОРТЕРА ЯЧМЕНЯ *HvNHX2* В РАСТЕНИЯ КАРТОФЕЛЯ ПОВЫШАЕТ ИХ СОЛЕУСТОЙЧИВОСТЬ И ДИФФЕРЕНЦИРОВАННО ВЛИЯЕТ НА НАКОПЛЕНИЕ НАТРИЯ В РАЗЛИЧНЫХ СОРТАХ**

Липатникова А.Б.\*, Митина А.М.\*\*, Собољкова Г.И.\*, Беляев Д.В., Юрьева Н.О.\*

\* Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая 35, 127276 Москва, тел.:(495)2318302, факс:(495)9778018

\*\* Московский государственный институт инженерной экологии;  
ул. Старая Басманная 21/4, 105066 Москва.

E-mail: [Positive.Melody@mail.ru](mailto:Positive.Melody@mail.ru)

Сложность селекционной работы по повышению устойчивости картофеля к засолению состоит в наличии многих генов, контролирующих реакцию растений на повышенное содержание соли, многие из которых характеризуются сложной регуляцией. Генетическая инженерия является более быстрым путем улучшения сортов картофеля. Ранее нами было отмечено повышение солеустойчивости растений при сверхэкспрессии в них гена Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>-антипортера (Ф.Баят с соавт., 2010). В настоящей работе сорта картофеля Скороплодный и Юбилей Жукова трансформированы геном вакуолярного Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>-антипортера ячменя *HvNHX2* под контролем 35S промотора. Ген *HvNHX2* был любезно предоставлен Бабаковым А.В., ВНИИСБ РАСХН. По нашим данным, в культуре *in vitro* сорт Юбилей Жукова имеет более высокие ростовые параметры и большую солеустойчивость, чем Скороплодный. Исследована реакция отдельных трансгенных линий на 100 мМ и 200 мМ NaCl в среде MS. Изучены следующие параметры: рост побегов, рост корней, число междоузлий, число листьев, сырая и сухая массы, а также накопление натрия. При повышенной концентрации соли в целом отмечено снижение большинства морфо-физиологических характеристик у всех проанализированных линий. На 100 мМ NaCl прирост корней трансгенных линий сортов Скороплодный и Юбилей Жукова был значительно выше такового исходных генотипов. Прирост побегов трансгенных линий сорта Юбилей Жукова был выше, чем у нетрансгенных растений исходного сорта. На среде с 200 мМ NaCl у всех линий, за исключением JZ9161(2), практически отсутствует рост корней и побегов. По всем измеренным ростовым параметрам данная линия является наиболее солеустойчивой. При 100 мМ NaCl исходный генотип с.Скороплодный накапливает больше ионов натрия, чем трансгенные линии. В противоположность этому, у двух трансгенных линий сорта Юбилей Жукова достоверно выше содержание ионов натрия при 100 мМ NaCl. Обсуждаются возможные механизмы солеустойчивости картофеля.

Работа осуществлена при финансовой поддержке Программы Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология» и гранта РФФИ 09-08-01243-а.

## ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ КЛЕТОК ДЕКОРАТИВНЫХ ДВУДОЛЬНЫХ РАСТЕНИЙ ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В ГОРОДСКОМ ОЗЕЛЕНЕНИИ

Литвинова И.И.<sup>1</sup>, Гладков Е.А.<sup>2</sup>, Седов К.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Московский Университет Инженерной Экологии; ул. Старая Басманная, 21/4, 105066 Москва, тел.: (499)2670701, факс: (499)2614961

<sup>2</sup> Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая, 35, 127276 Москва, тел.: (499)2318334, факс: (495)9778018

E-mail: [ilina-15@ya.ru](mailto:ilina-15@ya.ru) (Литвиновой И.И.)

Декоративные растения – важный элемент озеленения города. Однако, многие декоративные растения малоустойчивы к неблагоприятным факторам мегаполисов, поэтому одним из путей решения данной проблемы является получение устойчивых растений, с помощью биотехнологических методов. К сожалению, многие декоративные растения не введены в культуру клеток. Первым этапом работы было введение ряда декоративных растений в культуру клеток. Объектами нашего исследования были: лён крупноцветковый голубой (*Linum sp.*), клевер белый (*Trifolium repens*), брахикома иберисолистная (*Brachycome iberidifolia*) и др. Для получения каллусных культур использовались модифицированные питательные среды Мурасиге-Скуга (МС) и Гамборга, с различными концентрациями 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д) и кинетина. В качестве эксплантов использовались семена растений. Перед посадкой на питательные среды семена предварительно стерилизовали. Семена выдерживали в спирте в течение 30 секунд, затем помещали в раствор содержащий гипохлорит натрия (0,5% активного хлора) на 15-30 минут (в зависимости от растения) и 3 раза промывали стерильной дистиллированной водой. По результатам работы можно сказать, что наиболее оптимальными средами для получения каллуса льна крупноцветкового являлись: среда Гамборга с 6 мг/л 2,4-Д и среда МС с 8 мг/л 2,4-Д. Регенеранты льна были получены на среде Гамборга с добавлением 1 мг/л 6-бензиламинопурина (БАП) и 0,1 мг/л  $\alpha$ -нафтилуксусной кислоты (НУК). Для клевера белого наиболее оптимальной, для каллусообразования, была среда Гамборга с 6 мг/л 2,4-Д. На среде МС процент образования каллусов был значительно ниже. Для брахикома иберисолистной наиболее оптимальными условиями для каллусообразования были среды с добавлением кинетина: среда Гамборга с 8 мг/л 2,4-Д и 2 мг/л кинетина и среда МС с 6 мг/л 2,4-Д и 2 мг/л кинетина. Также, нами были получены каллусы гипсофилы изящной (*Gypsophila elegans*), хризантемы радость (*Chrysanthemum carinatum L.*), ромашки аптечной подмосковной (*Matricaria chamomilla*), годетии красавицы (*Godetia grandiflora*), вискарии глазковой (*Viscaria oculata*). Получить каллус на средах МС и Гамборга с различным содержанием 2,4-Д и кинетина не удалось

для василька голубого (*Centaurea cyanus*) и аллисума альпийского (*Alyssum alpestre*). Таким образом, подобраны условия каллусообразования для некоторых декоративных растений, используемых в городском озеленении.

## **СЕНСОРНЫЕ СИСТЕМЫ ЦИАНОБАКТРИЙ**

Лось Д.А., Зорина А.А., Синетова М.П., Миронов К.С.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая, 35,  
127276 Москва, тел./факс:(495)9779372  
E-mail: losda@ipppras.ru (Лосю Д.А.)

В докладе будут охарактеризованы все известные системы регуляции генной экспрессии у цианобактерий, включая сенсорные гистидинкиназы и регуляторы ответа, серин-треониновые протеинкиназы эукариотического типа, транскрипционные факторы, сигма-субъединицы РНК-полимеразы. Будут рассмотрены механизмы восприятия сигналов об абиотических стрессах клетками цианобактерий и пути передачи этих сигналов, запускающие экспрессию генов стрессовых ответов. Будет также представлен обобщенный материал по анализу геномной транскрипции при разных стрессах в процессе акклиматизации клеток к неблагоприятным факторам внешней среды.

## **ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС В РАСТЕНИЯХ И КУЛЬТУРАХ КЛЕТОК ПРИ ДЕЙСТВИИ КСЕНОБИОТИКОВ И ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ**

Лукаткин А.С., Егорова И.В., Латюк И.Д., Русяева М.М., Аросланкина Ю.Н.

ГОУВПО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева»;  
ул. Большевицкая, 68, 430005 Саранск, тел.: (8342)322507, факс: (8342)324554  
E-mail: aslukatkin@yandex.ru

В современных условиях возрастает антропогенное воздействие на экосистемы, в т.ч. загрязнение среды тяжелыми металлами (ТМ) и ксенобиотиками, к числу которых принадлежат пестициды, широко применяемые при выращивании сельскохозяйственной продукции. Гербициды – препараты для уничтожения сорной растительности – высоко токсичны для растений, в связи с чем возможно их экспериментальное использование в качестве ксенобиотиков.

Разнообразные стрессоры вызывают каскад ответных реакций растительной клетки, частью которого является быстрое и временное возрастание образования активированных форм кислорода (АФК). В результате усиления генерации АФК в клетках возникает состояние окислительного стресса – изменение баланса между образованием АФК и активностью антиоксидантной защиты в пользу первого. Повреждение структуры мембран, перекисное окисление липидов (ПОЛ), нарушение структуры и инактивация белков являются типичными последствиями действия АФК. Известны данные об изменениях отдельных компонентов окислительной и антиоксидантной систем растений при действии ксенобиотиков и ТМ. Однако детальное представление о процессах, приводящих к окислительному стрессу в растительных клетках при антропогенной нагрузке, не сформировано.

В работе проведено комплексное исследование влияния различных концентраций ксенобиотиков (гербицидов Гранстар и Топик) и ТМ ( $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ) на физиологические и биохимические параметры, связанные с окислительным стрессом, в молодых растениях и клеточных культурах. Объектами исследования служили огурец (*Cucumis sativus* L.), редис (*Raphanus sativus* L.), кукурузу (*Zea mays* L.), озимую пшеницу (*Triticum aestivum* L.), озимую рожь (*Secale cereale* L.).

Выявлены изменения интенсивности ПОЛ, генерации супероксидного анион-радикала ( $\text{O}_2^-$ ), общей антиоксидантной активности, активности защитных ферментов – супероксиддисмутазы (СОД), каталазы и аскорбатпероксидазы, состояния клеточных мембран при действии ксенобиотиков и ТМ. Реакции растений и клеточных культур нелинейно зависели от длительности обработки ксенобиотиками и ТМ, а также от их концентрации. Показаны существенные различия в действии различных ксенобиотиков на разные растительные объекты.

Сделано заключение, что в основе первичных реакций растительной клетки на действие ксенобиотиков и ТМ лежит возникновение окислительного стресса. На первом этапе происходит резкое усиление генерации  $\text{O}_2^-$  в клетках. В ответ на это происходит всплеск активности основного фермента, дисмутирующего его – СОД, а также других антиоксидантных ферментов.  $\text{O}_2^-$  вместе с другими АФК, возникающими на его основе, инициирует и многократно усиливает цепные процессы ПОЛ. Усиление индукции и повышенное накопление перекисей приводит к увеличению активности каталазы и пероксидаз, ответственных за их утилизацию. Данная схема выстраивает закономерность развития отдельных реакций, входящих в комплекс противодействия окислительному стрессу при действии ксенобиотиков.

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ РАЗЛИЧНЫХ СТРЕССОРОВ НА ЭКСПРЕССИЮ ПЛАСТИДНЫХ ГЕНОВ НА ПРИМЕРЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ТЕПЛООВОГО ШОКА (ТШ) И КАДМИЯ (Cd)

Лысенко Е.А., Зарипова Н.Р., Клаус А.А., Кузнецов В.В.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая, 35, 127276 Москва, тел.:(495)2318334, факс:(495)9778018

E-mail: [genlysenko@mail.ru](mailto:genlysenko@mail.ru) (Лысенко Е.А.)

Растения часто подвергаются воздействию различных стрессовых факторов. Одной из наиболее важных мишеней стрессоров является фотосинтетический аппарат. Основные субъединицы комплексов электрон-транспортной цепи тилакоидных мембран и большая субъединица Рубиско кодируются генами пластома. Поэтому интересно, каким образом различные стрессоры влияют на экспрессию генов пластома. В литературе есть некоторое количество разрозненных данных по влиянию различных стрессоров на разные этапы экспрессии генов в пластидах. Наиболее изученными оказываются два столь разных фактора как ТШ и Cd.

В условиях ТШ и в присутствии Cd усиливается транскрипция генов субъединицы I НАД(Ф)-Н дегидрогеназного комплекса (*ndhA*) и генов рибосомных белков (*rpl23*, *rpl2*, *rpl16*). Кроме того, при ТШ происходит активация транскрипции генов, кодирующих белки реакционных комплексов ФС1 (*psaA*, *psaB*) и ФС2 (*psbA*, *psbD*), другие субъединицы НАД(Ф)-Н дегидрогеназного комплекса (*ndhF*), рибосом (*rps16*) и субъединицу РНК-полимеразы пластома (*rpoB*).

Важными стадиями созревания вновь синтезированных молекул РНК являются редактирование РНК и сплайсинг интронов. При ТШ подавляется редактирование мРНК *ndhB*: при 38°C только в одном сайте, а при 42°C – еще в двух. Воздействие Cd на этот процесс пока остается неизученным. Сплайсинг интрона в мРНК *ndhB* не нарушается при 38°C, но подавляется при 42°C. Для Cd получены экспериментальные данные, на основании которых предполагается, что этот тяжелый металл подавляет сплайсинг мРНК гена *rpl16*. Нами сейчас проводятся дополнительные исследования в этом направлении, и результаты их также будут представлены в докладе. При кадмиевом стрессе пока не выявлено изменений в содержании РНК. При умеренном ТШ (38-40°C) происходит накопление некоторых мРНК (*psaA*, *psbC* и в меньшей степени – *psbA*, *B*, *D*, *E*), но при дальнейшем росте температуры до 46-48°C уровень мРНК этих генов падает.

Отличается и характер воздействия двух стрессоров на трансляцию. В условиях ТШ трансляция белка Д1 (*psbA*) подавляется с самого начала, а при воздействии Cd сначала происходит усиление синтеза Д1, но со временем трансляция также ингибируется. Интересно, что при одновременном наложении этих двух факторов они компенсируют воздействие друг друга, и на ранних этапах не наблюдается изменения трансляции Д1 белка.

Таким образом, видно, что различные стрессоры оказывают различное воздействие на экспрессию генов в пластидах, хотя в их действии есть и немало общего.

Проводимые исследования поддержаны грантами РФФИ 10-04-00799-а, 10-04-90052-Бел\_а, Программа Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология»

## **НИЗКАЯ ПОЛОЖИТЕЛЬНАЯ ТЕМПЕРАТУРА КАК ФАКТОР ДЛЯ ФОРМИРОВАНИЯ МЕХАНИЗМОВ АДАПТАЦИИ И АКТИВАЦИИ ПРОГРАММИРУЕМОЙ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ В СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ**

Любушкина И.В., Грабельных О.И., Побежимова Т.П., Павловская Н.С., Королева Н.А., Степанов А.В., Войников В.К.

Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения РАН; ул. Лермонтова, 132, 664033 Иркутск, тел.: (3952)424659, факс: (3952)510754

E-mail: [estel\\_86@mail.ru](mailto:estel_86@mail.ru) (Любушкиной И.В.)

В работе показана возможность низких положительных температур оказывать разнонаправленное действие на растительные клетки. В зависимости от интенсивности воздействия либо способствовать формированию механизмов низкотемпературной адаптации, либо вызывать активацию программируемой клеточной гибели. В качестве модельной системы использовалась суспензионная культура клеток озимой пшеницы, находящаяся в ранней экспоненциальной фазе. При действии на культуру клеток в течение 7 суток низких положительных температур (+4 и +8°C) наблюдали синтез дегидринов, что является одним из необходимых условий формирования закаленного состояния. Однако, поскольку при снижении температуры увеличивается вероятность активации гидролитических ферментов, осуществляющих важнейшие этапы программируемой клеточной гибели, влияние различных по интенсивности низких положительных температур на процессы



метаболизма в клетке может быть различным. Отличием в действии изученных нами температур явилось увеличение гибели клеток при более низкой температуре (+4°C) и различная реакция культуры клеток на последующую обработку отрицательной температурой (-8°C, 6 ч). Так в культуре, предварительно подвергнутой обработке +8°C и дальнейшему воздействию отрицательной температуры, не происходило увеличения доли мертвых клеток, то есть сформировавшиеся во время обработки данной температурой механизмы адаптации эффективно защищали клетки от повреждающего воздействия отрицательной температуры. Тогда как в культуре, подвергнутой предварительной обработке +4°C с последующим воздействием отрицательной температуры, гибель клеток развивалась во времени и сопровождалась отставанием протопласта от клеточной стенки, снижением интенсивности дыхания и фрагментацией ДНК. Сделано заключение, что длительная обработка суспензионной культуры озимой пшеницы низкой положительной температурой +8°C способствует формированию механизмов низкотемпературной адаптации, в то время как температура +4°C может служить стимулом, запускающим программу клеточной гибели.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ (№08-04-01037 и №10-04-00921) и молодежного проекта СО РАН.

## **ВЛИЯНИЕ ПУТРЕСЦИНА И СПЕРМИДИНА НА АДАПТАЦИЮ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ И РИСА К НЕДОСТАТКУ КИСЛОРОДА И ПОСЛЕДУЮЩЕМУ ОКИСЛИТЕЛЬНОМУ СТРЕССУ**

Ма Г., Емельянов В.В., Ласточкин В.В., Чиркова Т.В.

Санкт-Петербургский государственный университет, 199034 Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9, тел.: (812)3289695

E-mail: *mgy19861205@hotmail.com* (Ма Г.), *bootika@mail.ru* (Емельянову В.В.)

В данном исследовании изучали действие полиаминов (путресцина и спермидина) на жизнеспособность растений пшеницы и риса в условиях анаэробного воздействия. Использовали 2 метода оценки жизнеспособности: выход электролитов из растительных тканей и тест по восстановлению солей тетразолия. Полученные результаты свидетельствуют о положительном действии обработки полиаминами на жизнеспособность проростков пшеницы. На проростках риса эффект полиаминов не столь однозначен, что может быть связано с особенностями эндогенного уровня этих соединений.

Тест по выходу электролитов, использованный для оценки жизнеспособности, вместе с тем, является показателем степени стабильности мембран. О деструктивных процессах в мембранах свидетельствует перекисное окисление липидов (ПОЛ). В связи с этим мы изучали действие полиаминов на ПОЛ в проростках пшеницы и риса в условиях аноксии и пост-аноксического окислительного стресса. Уровень ПОЛ определяли по содержанию ТБК-реактивных продуктов, в пересчете на малоновый диальдегид. Действие аноксии и последующей реэрации в значительно большей степени стимулировало ПОЛ, чем действие одной только аноксии. Обработка экзогенными полиаминами снижала интенсивность ПОЛ у обоих растений, причём у неустойчивого (пшеницы) – в большей степени.

Таким образом, в результате исследования обнаружено, что полиамины оказывали наиболее положительный эффект на жизнеспособность и состояние мембран объекта, менее приспособленного к кислородной недостаточности, что, по-видимому, связано с различием в эндогенном содержании этих веществ в опытных растениях, которые предполагается исследовать в дальнейшей работе.

Работа поддержана РФФИ (10-04-01035а).

## **СВЯЗЫВАЮЩИЕСЯ С ПОЛИСАХАРИДАМИ ПЕРОКСИДАЗЫ В ПРОЯВЛЕНИИ ИММУНИТЕТА РАСТЕНИЙ**

Максимов И.В., Черепанова Е.А.,

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, пр. Октября 71, 450054 Уфа, тел. (факс): (347)235-60-88.

E-mail: [phyto@anrb.ru](mailto:phyto@anrb.ru)

Одним из важных этапов функционирования защитной системы растений от биотических стрессовых факторов является изоляция патогена от питательных ресурсов путем механического упрочнения клеточной стенки в зоне инфицирования отложениями каллозы и лигнина. Одними из важных в этом являются оксидоредуктазы, генерирующие и утилизирующие активные формы кислорода (АФК) и вовлеченные в лигнификацию. Среди них особое место занимает пероксидаза [Yoshida, 2003; Liu, 2005]. Часть изопероксидаз функционально связана с клеточной стенкой и участвует в ее модификации. Кроме этого, другие могут составлять комплексы с экстенсинами [Morimoto et al., 1999; Brownleader et al., 2002]. У ряда изопероксидаз обнаружено свойство

связываться с хитином клеточной стенки патогенов [Максимов и др, 1995]) пектином и арабиногалактанами растений [Carpin et al., 1999; Brownleader et al., 1999], что позволяет сравнить их с  $\beta$ -лектинами [Brownleader et al., 2002]. Любопытно, что анионные хитин-специфичные пероксидазы цуккини [Максимов и др., 2003], в присутствии ионов  $\text{Ca}^{2+}$  взаимодействуют и с пектинами [Carpin et al., 2001]. Это позволяет обсуждать масштабность явления полисахарид-специфичности у пероксидаз. Известно, что лигнификация, происходящая при непосредственном участии пероксидаз, инициируется только при наличии полисахаридной матрицы [Запрометов, 1989], которая в растениях бывает ацелирована до 80% [Горшкова, 2007]. Причем, согласно Горшковой Т.А. [2007] практически до сегодняшнего дня не выявлено «четкой функциональной нагрузки ацелирования полисахаридов». В то же время нами обнаружено, что ацелирование полисахаридов является одним из важных показателей, обуславливающих связывание некоторых изоформ пероксидаз с ними, как это происходит, например, с хитином грибных патогенов [Максимов и др., 1995; Валеев, 2007]. Среди поставленных в этой работе задач стоит оценка масштабности функций связывающихся с полисахаридами изопероксидаз растений, таких как рост-регулирующая, сигнальная и защитная и, соответственно, выделить из их множества отдельный, пока не охарактеризованный, класс ферментов. Соответственно, изучение способности ряда полисахаридов, таких как глюканы грибов, компоненты клеточных стенок бактерий и пектины растений связываться с растительными пероксидазами может доказать важную роль полисахаридов в функционировании иммунной системы растений.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов Минобрнауки «Научные научно-педагогические кадры инновационной России» ПЗ39 и АВЦП «Развитие научного потенциала высшей школы» №2.1.1./5676.

## **ИЗМЕНЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНОГО СТАТУСА ЭЛОДЕИ ПРИ СОВМЕСТНОМ ДЕЙСТВИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ (Ni, Mn, Zn, Cu, Cd)**

Малева М.Г., Некрасова Г.Ф., Чукина Н.В., Шабурова О.С.

Уральский государственный университет им. А.М. Горького; пр. Ленина, 51, 620000, Екатеринбург, тел.: (343)2616685, факс: (343)3507401

E-mail: *maria.maleva@mail.ru* (Малевой М.Г.)

Устойчивость растений к стрессовым факторам, в первую очередь, зависит от их антиоксидантного статуса (АОС), то есть способности

поддерживать баланс между антиоксидантными и прооксидантными реакциями, протекающими в клетке. Под действием тяжелых металлов (ТМ) количество активных форм кислорода (АФК) может резко увеличиваться, что приводит к сильному окислительному стрессу. Важную роль в защите от АФК играют низко- и высокомолекулярные антиоксиданты. В литературе имеется много сведений по влиянию отдельных ионов на состояние АОС растений, однако совместное действие металлов изучено недостаточно.

В модельных опытах побеги элодеи инкубировали в течение 4-х суток на среде с Ni, Mn, Zn, Cu, Cd (сульфаты) и совместно Ni и Mn в комбинации с другими металлами в концентрации 1  $\mu\text{M}$ . Дополнительно был поставлен эксперимент по влиянию Ni и Mn совместно с Zn в градиенте концентраций (0, 10, 50 и 100  $\mu\text{M}$ ). Были изучены накопительная способность, уровень ПОЛ (по количеству ТБК-реагирующих продуктов), активность СОД, КАТ, ГР, гваяколовой пероксидазы, содержание белковых и небелковых тиолов в листьях *Elodea densa* (Planch.) Casp.

Обнаружено, что листья элодеи накапливали ионы Ni, Mn, Zn, Cu и Cd более интенсивно без присутствия других металлов в среде. Однако в случае вариантов Mn+Ni и Mn+Zn содержание Ni и Zn в листьях уменьшалось, в то время как Mn достоверно возрастало. Уровень ПОЛ сильнее возрастал при действии отдельных ионов. Наибольшее окисление липидов наблюдали в варианте с Cu (на 35%). Совместное присутствие металлов в среде приводило к уменьшению количества ТБК-РП, за исключением пары Ni+Zn и Ni+Mn.

Активность ферментов-антиоксидантов в листьях элодеи повышалась адекватно усиливающемуся окислительному процессу. Отмечено, что при совместном действии ТМ активность СОД, ГР и пероксидазы была значительно выше, чем при действии отдельных ионов (в 1.2-2.0 раза), особенно при возрастании их концентрации. В то же время повышенная активность КАТ наблюдалась лишь на низкой концентрации металлов (1  $\mu\text{M}$ ). Отдельные ТМ стимулировали синтез небелковых тиолов, однако при совместном действии ионов их количество снижалось, особенно на высоких концентрациях Ni и Mn с Zn. На низкой концентрации металлов содержание SH-групп в белках изменялось незначительно, однако с повышением концентрации до 100  $\mu\text{M}$  возрастало при совместном действии в 1.3-1.6 раза соответственно.

Таким образом, даже низкая концентрация ТМ в среде вызывала окислительные повреждения мембран в листьях элодеи. В большинстве вариантов добавление второго металла снижало токсический эффект. Можно предположить наличие антагонизма в парах Ni+Cd, Ni+Cu, Ni+Zn и синергизма в парах Mn+Zn и Mn+Ni.

Работа выполнена при финансовой поддержке ГК № П2364 и ГК № П1301 и гранта Президента РФ (МК-881.2010.4).

## АДАПТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ (*Hydrangea macrophylla* SER.) НА ЧЕРНОМОРСКОМ ПОБЕРЕЖЬЕ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ

Маляровская В.И.

ГНУ ВНИИ цветоводства и субтропических культур Россельхозакадемии, г. Сочи, ул. Я.Фабрициуса, 2/28, тел.: 8(918)1059115, факс: (8622)964246

E-mail: [Oksana191962@rambler.ru](mailto:Oksana191962@rambler.ru)

Определение адаптивных возможностей форм *H. macrophylla* к неблагоприятным факторам окружающей среды на Черноморском побережье Краснодарского края является актуальной проблемой. Рассматриваемый регион характеризуется ежегодными летними засухами, и значительные нарушения водного режима в годы исследований отмечались у форм *H. macrophylla* уже со II декады июля вплоть до конца августа.

Исследования показали, что общее содержание воды в листьях растений *H. macrophylla* находится в среднем от 82,1% (в мае) до 79,9% (в сентябре). Отмечено варьирование водного режима в зависимости от генотипа. Наибольшая, оводненность тканей в течение всего периода вегетации отмечена у *H. Draps Wonder*, наименьшая – у *H. Madame Faustin Travouillon*. В неблагоприятный по гидротермическим условиям период, в листьях у *H. Madame Faustin Travouillon* (контроль) оводненность тканей снижалась до 75,9–76,7%, в то время как у более устойчивых: *H. x serratophylla Mariesii Perfecta* и *H. Draps Wonder*, значения этого показателя в течение исследуемого периода были в среднем на 4–7% выше контрольных величин.

У растений *H. macrophylla* отмечено различие в накоплении сухого вещества, так в оптимальный период вегетации (май) наибольшее накопление сухого вещества характерно для *H. Madame Faustin Travouillon* и *H. Bichon*. В то же время, в неблагоприятный по водообеспеченности период, сопровождаемый высокими температурами воздуха, когда в растениях фиксируется значительный водный дефицит и происходит торможение физиологических процессов, наблюдается некоторое затухание процессов синтеза у неустойчивых форм, выражающееся в замедлении накопления сухого вещества.

Существенно отличаются изучаемые формы *H. macrophylla* по величине водного дефицита. В оптимальный по водообеспеченности период водный дефицит в листьях у растений *H. macrophylla* составлял в среднем 11,8%. По мере возникновения стрессовой ситуации, колебание водного дефицита, в разной степени, наблюдалось у всех форм. В то же время, у *H. x serratophylla Mariesii Perfecta* и *H. Draps Wonder* усиление водного

дефицита было менее значительным, в среднем в 1,2 раза (до 15,2%) по сравнению с первоначальным. У неустойчивых форм *H. macrophylla* водный дефицит усиливался до 17,0 – 18,7%, в большей степени у *H. Madame Faustin Travouillon* (контроль) – до 19,3%.

Установлено, что формы *H. macrophylla* различаются степенью жаро-засухоустойчивости в неблагоприятные периоды вегетации. По изучаемым показателям выделены: *H. Draps Wonder*, *H. Madame Maurice Hamard*, *H. x serratophylla Mariesii Perfecta*. Для диагностики адаптационного потенциала растений *H. macrophylla* рекомендуем использовать экспресс-метод: измерение коэффициента жаро-засухоустойчивости.

## **ЯВЛЯЕТСЯ НИЗКАЯ ТЕМПЕРАТУРА СТРЕССОМ ДЛЯ РАННЕВЕСЕННИХ ЭФЕМЕРОИДОВ?**

Мамушина Н.С., Зубкова Е.К., Буболо Л.С., Тютерева Е.В.

Ботанический институт им.В.Л. Комарова РАН; ул. Проф. Попова, 2,  
197 376 Санкт-Петербург, тел: (812) 2341957, факс: (812) 3463643

E-mail: [zubkovaelena44@mail.ru](mailto:zubkovaelena44@mail.ru) (Мамушиной Н.С.)

В программе роста и развития эфемероидов можно выделить следующие этапы. В осенне-зимний период развитие подземных вегетативных органов размножения происходит только при низко отрицательной температуре, что доказано экспериментально (Горышина, 1969). Ранней весной, вместе с процессом снеготаяния начинается рост наземной биомассы и процесс цветения, т.е. при сочетании низкой температуры (+4°C) и высокой инсоляции. В литературе господствует точка зрения, что в этих условиях и фотодыхание, и темновое дыхание выполняют функцию защиты фотосинтетического аппарата от окислительного стресса и деструкции (Heldt & Kromer, 1991; Heber et al., 1996). Основной задачей нашей работы было исследование компонентов углекислотного газообмена листа *in situ* – нетто-фотосинтеза, фотодыхания и темнового дыхания листа с помощью портативного газоанализатора (LCA-4) ФАР = 900  $\mu\text{mol}/(\text{м}^2\text{сек})$ ,  $t^\circ=23^\circ$ . Одновременно проводилась фиксация для изучения ультраструктуры клеток мезофилла листа. Объекты – *Galanthus nivalis* L., *Scilla sibirica* Haw, *Anemona ranunculoides* L., *Ficaria verna* Huds и летневегетирующий вид *Ranunculus acris* L. (стадии цветения). Обнаружили, что величина нетто-фотосинтеза (10,8 – 11,2) и темнового дыхания (0,9-1,3) ( $\mu\text{mol CO}_2/\text{м}^2\text{сек}$ ) самые высокие у *F. verna* и *A. ranunculoides*, в то время, как у лютика

фотосинтез – 4,0, а дыхание – 0,6. Выделение  $\text{CO}_2$  сразу после фотосинтеза было выше, чем темновое дыхание в 2 раза у всех эфемероидов, например, у *F. verna* после света – 1,7, темнота 20 мин – 0,8. В то же время у лютика оно было лишь незначительно выше (после света – 0,8, темнота – 0,6). Этот феномен коррелирует с числом пероксисом (на 100  $\mu\text{m}^2$ ) в клетках мезофилла – у эфемероидов от 4 до 8, а у лютика – 1-2. В то же время число хлоропластов и митохондрий у всех объектов было примерно одинаково и колебалось от 13-18 (хлоропласты) и 8-17 (митохондрии). Высказывается предположение, что процесс выделения  $\text{CO}_2$  сразу после фотосинтеза включает в себя 2 компонента – темновое дыхание и фотодыхание. Ранее нами было показано, что в листе эфемероида ни один из этапов темнового дыхания не ограничены на свету в условиях фотосинтеза. Изучение ключевого фермента фотодыхания – глицидекарбоксилазы показало его высокую активность уже в самом начале роста листа растений. Отметим, что процесс выделения  $\text{CO}_2$  и в ходе темнового дыхания, и фотодыхания происходит в митохондриях. Таким образом, в ходе эволюционной адаптации эфемероиды сформировали стратегию защиты процесса фотосинтеза от угрозы фотоингибирования, которое включает сопряженное функционирование фотодыхания и темнового дыхания на свету, что и обеспечивает активную ассимиляцию углерода при фотосинтезе ранней весной. Это позволяет отнести эфемероиды к криофитам, для которых низкая температура является не стрессом, а облигатным фактором для осуществления всей программы роста и развития.

## **ИССЛЕДОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ ЗВЕНЬЕВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ЗАЩИТЫ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ ПРИ ПОРАЖЕНИИ ЯЧМЕНЯ ВОЗБУДИТЕЛЕМ СЕТЧАТОЙ ПЯТНИСТОСТИ**

Манжелесова Н.Е.

ГНУ “Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича” НАН Беларуси, ул. Академическая, 27, г. Минск, 220072, Беларусь, тел.: (37517)2840543, факс (37517)2841853

E-mail: [patphysio@mail.ru](mailto:patphysio@mail.ru) (Манжелесовой Н.Е.)

Инфицирование растений возбудителями различных заболеваний – стрессовое событие, вызывающее каскад метаболических изменений, в том числе образование и накопление активных форм кислорода, которое сопровождается повреждением растительных клеток. Для

защиты от окислительной деструкции существует антиоксидантная система, которая предупреждает патологические изменения. Двойной контроль осуществляют антиоксиданты ферментативной (пероксидаза, СОД, каталаза) и неферментативной природы. Среди последних значительная роль принадлежит фенольным соединениям, которые широко распространены в растительных организмах и давно привлекают большое внимание из-за их потенциального защитного эффекта. Целью работы было изучение содержания фенольных соединений и активности пероксидазы при патогенезе ячменя сетчатой пятнистостью (возбудитель болезни – гембиотрофный патоген *Pyrenophora teres*) как ответной неспецифической реакции на окислительный стресс, уровень которого определяли по накоплению малонового диальдегида в листьях. Показано, что инфицирование растений *Pyrenophora teres* вызывает усиление процессов перекисного окисления липидов в тканях, которые по интенсивности, вероятно, превосходят уровень активности антиоксидантной системы. Так, активность пероксидазы в листьях в первые сутки после инокуляции спорами гриба падала по сравнению со здоровым контролем на 30%. В дальнейшем на 4-6 сутки развития болезни активность фермента повышалась. Качественный состав фенольных соединений в течение опыта практически не изменялся. Общий уровень фенолкарбоновых кислот мало изменялся через двое суток после заражения и увеличивался на шестые сутки после инокуляции спорами. Суммарное количество оксибензойных кислот на начальном этапе развития инфекции несколько снижалось, слабо возрастая к шестым суткам. Содержание оксикоричных кислот повышалось на вторые сутки после заражения, сохраняясь на таком уровне и на шестые сутки развития инфекции. По сравнению со здоровыми в инфицированных растениях в первый и второй сроки анализа общее содержание эфиров фенолкарбоновых кислот и флавоноидных гликозидов несколько повышалось. Количество эфиров падало на вторые сутки развития болезней, в дальнейшем незначительно повышалось. Такой характер изменений их состава и содержания фенольных соединений, а также активности пероксидазы при патогенезе ячменя сетчатой пятнистостью говорит о том, что сорт довольно восприимчив к болезни. Об этом свидетельствовало и интенсивное распространение некроза на листьях растений в опыте.



## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ УСТОЙЧИВОСТИ ДВУХ СОРТОВ ЯРОВОГО РАПСА (*Brassica napus* L.) К ДЕЙСТВИЮ ИОНОВ Cu И Zn

Мараей Мухаммед М.\*, Холодова В.П.\*\* , Ралдугина Г.Н.\*\*

\* Российский университет дружбы народов, ул. Миклухо-Маклая, 6, 117198 Москва

\*\* Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая, 35, 127276 Москва, тел.: (499)2318302, факс: (495)9778018

E-mail: galina@ippras.ru (Ралдугиной Г.Н.)

Медь и цинк являются эссенциальными элементами, т.е. в небольших количествах необходимыми для жизнедеятельности организмов. Однако повышенные концентрации этих тяжелых металлов (ТМ) оказывают негативное воздействие на рост и развитие растений. Попадая в почву, они приобретают высокую мобильность и могут поглощаться корнями растений, накапливаясь в тканях некоторых видов растений, которые относят к классу аккумуляторов. Среди растений аккумуляторов выделяют особую группу – гипераккумуляторы, способную не только успешно расти на загрязнённых тяжелыми металлами почвах, но при этом аккумулировать значительные количества ионов ТМ в надземных органах, при этом рост этих растений ингибируется слабо. Одними из таких растений являются растения семейства Brassicaceae, в частности, рапс – *Brassica napus* L., относящийся к роду капуст (*Brassica*). Он способен формировать большую надземную часть, в которой могут накапливаться ионы металлов, очищая почву от ТМ. Цель работы заключалась в установлении степени повреждающего действия на растения рапса сортов *Вестар* (канадской селекции) и *Подмосковный* (селекции ВНИИ кормов имени В. Р. Вильямса) ионов Zn и Cu, чтобы выбрать более подходящий для целей фиторемедиации. Растения выращивали в гидропонной культуре и при достижении возраста 6-ти недель в среду добавляли растворы  $\text{CuSO}_4$  в концентрации 10, 25 и 50 мкМ или  $\text{ZnSO}_4$  - 100, 250 и 500 мкМ. Содержание ТМ и пролина (Про) было измерено в листьях на 7 и 15 сутки. Было отмечено, что содержание ионов металлов в ткани растений зависело от концентрации их в питательном растворе, времени экспозиции и сорте растений. При этом ионов меди было выше в листьях Вестара, тогда как цинк в большей степени накапливался в листьях Подмосковного. При измерении накопления Про было обнаружено, что наибольшее количество Про в растениях обоих сортов накапливалось при воздействии ионов меди, при этом содержание его в листьях Подмосковного было значительно выше, чем в листьях Вестара. Добавление в питательный раствор  $\text{ZnSO}_4$  также

вызывало увеличение в листьях содержания Про, однако его количество было примерно в 10 раз меньше, чем при воздействии ионов Cu. При этом большее количество Про накапливалось в листьях Вестара. Рост растений обоих сортов ингибировался солями этих ТМ в равной степени, однако соль цинка была менее токсична, чем значительно меньшая концентрация соли меди. Таким образом, несмотря на разное происхождение, растения обоих сортов показали примерно одинаковую устойчивость к воздействию этих ТМ и оба сорта могут быть использованы в целях фиторемедиации.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 10-04-00799-а; 09-08-01243-а, а также программы Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология».

## **УСТОЙЧИВОСТЬ ДРЕВЕСНЫХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ К ПРОМЫШЛЕННОМУ ЗАГРЯЗНЕНИЮ**

Маракаев О.А.\*, Смирнова Н.С.\*, Черемовская Ю.К.\*, Загоскина Н.В.\*\*

\* Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова; ул. Советская, 14, 150000 Ярославль, тел. (4852)480739, факс: (4852)442928

\*\* Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая, 35, 127276 Москва, тел.: (495)9779433, факс: (495)9778018

E-mail: [olemar@yandex.ru](mailto:olemar@yandex.ru) (Маракаеву О.А.), [phenolic@ippras.ru](mailto:phenolic@ippras.ru) (Загоскиной Н.В.)

Одной из главных проблем больших городов, в том числе с хорошо развитым промышленным производством, является наличие в окружающей среде высоких концентраций токсических веществ. К последним относятся и тяжелые металлы (ТМ), влияющие на рост и развитие древесных видов растений, сохранение их жизнеспособности.

Целью работы являлась оценка устойчивости к промышленному загрязнению окружающей среды 8 видов древесных растений, произрастающих в 12 парках 6 административных районов г. Ярославля, и разработка рекомендаций по их подбору для культивирования в городских парках.

О реакции растений на техногенный стресс судили по показателям уровня аккумуляции ТМ в листьях, которые определяли методом эмиссионного спектрального анализа, и содержания фотосинтетических пигментов, которое устанавливали спектрофотометрическим методом.

Все древесные растения накапливали в листьях такие вещества техногенного происхождения, как ТМ (Pb, Zn, Cu, Mn, Cd, Fe). Наиболее высокая способность к их аккумуляции, по отношению к ПДК, обнаружена у

тополя душистого (*Populus suaveolens*), ивы белой (*Salix alba*), вяза гладкого (*Ulmus laevis*), а пониженная – у сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*), рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia*).

Для всех изученных видов растений отмечено высокое содержание в листьях хлорофилла *a*, низкое – хлорофилла *b* и особенно каротиноидов. При этом светолюбивым видам (береза, ясень) свойственно повышенное содержание хлорофилла *a* и пониженное – хлорофилла *b* по сравнению с теневыносливыми видами (липа и др.). Содержание пигментов в листьях разных видов древесных растений зависит от локальной техногенной нагрузки на территории парков. Так, деревья, произрастающие на участках парков, примыкающих к автомагистралям и испытывающих воздействие загрязненного выбросами автотранспорта воздуха, уступают по количеству хлорофиллов в листьях деревьям, расположенным в центральных частях парков, но превосходят их по содержанию каротиноидов.

Таким образом, в целях оптимизации состояния воздушной среды г. Ярославля целесообразно его озеленение посадками в парках тополя душистого, ивы белой и вяза гладкого, обладающих значительной способностью к накоплению ТМ. Перспективно также культивирование в городских парках клена остролистного и липы сердцевидной, характеризующихся высокой устойчивостью пигментной системы к промышленному загрязнению окружающей среды.

## **ДЕЙСТВИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА НА КОРНЕВУЮ МЕРИСТЕМУ ВНЕЯДЕРНЫХ МУТАНТОВ И ГИБРИДОВ ПОДСОЛНЕЧНИКА**

Маркин Н.В., Курышева О.С., Усатов А.В.

НИИ биологии Южного федерального университета; пр. Стачки, 194/1, 344090, Ростов-на-Дону, тел.:(863) 243-33-94

E-mail: [nmarkin@mail.ru](mailto:nmarkin@mail.ru) (Маркину Н.В.)

Известно, что определенную роль в формировании устойчивости растений к экстремальным воздействиям играет внеядерная генетическая система. Однако, в литературе мало сведений о влиянии мутационной изменчивости цитогенов и различных ядерно-цитоплазматических комбинаций на стресс-реакцию растительного организма. В связи с этим нами определены некоторые показатели стресс-ответа корневой меристемы проростков подсолнечника, различающихся мутациями в цитогенах (линия 3629 и две линии внеядерных мутантов: *en:chlorina-7* и

*pr-6-en:chlorina-7*, полученные на ее генетической основе) и их гибридов (пятое бэккроссовое поколение) с линией дикорастущей формы (Д. ф.) в качестве отцовского родителя на воздействие гипербарической оксигенации (ГБО) 0,7 МПа в течение 14 часов. Были определены показатели всхожести и роста растений (полевые опыты), интенсивности  $H_2O_2$ -люминол-индуцированной хемилюминесценции (ИХЛ), активности супероксиддисмутазы (СОД), каталазы и уровня накопления малонового диальдегида (МДА) в норме и после обработки проростков ГБО. Полученные результаты свидетельствуют, что после воздействия ГБО всхожесть семян линии дикорастущей формы увеличилась на 127% у культурных линий (3629 и внеядерных мутантов) снизилась на 20-35%, а у ядерно-цитоплазматических гибридов не изменилась по сравнению с соответствующим контролем (без ГБО). При этом ГБО не оказало влияние на скорость роста растений всех исследованных форм. Показатели максимальной быстрой вспышки ИХЛ в корневой меристеме проростков дикорастущей формы подсолнечника не изменились, у культурных линий увеличились, а у ядерно-цитоплазматических гибридов уменьшились в среднем в 2 раза на фоне увеличения активности СОД. Уровень МДА после ГБО увеличился в корневой меристеме проростков линии 3629; у дикорастущей формы, ревертанта *pr-6-en:chlorina-7* и ядерно-цитоплазматического гибрида *en:chlorina-7* × Д. ф. уменьшился, а у пластомного мутанта *en:chlorina-7* и ядерно-цитоплазматических гибридов 3629 × Д. ф. и *pr-6-en:chlorina-7* × Д. ф. не изменился. Таким образом, можно заключить, что наибольшую устойчивость к действию ГБО демонстрируют ядерно-цитоплазматические гибриды и линия дикорастущей формы. Наименьшая устойчивость определена у проростков инбредной линии 3629 (более 50 лет инбридинга). Внеядерные мутанты проявили большую по сравнению с линией 3629 устойчивость к действию ГБО. Полученные результаты указывают на цитоплазматический эффект, в формировании устойчивости к окислительному стрессу, однако его выражение зависит от конкретной комбинации ядро-цитоплазм.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (грант «Развитие научного потенциала высшей школы (2009-2010)» № 2.1.1/4947).

## ВОЗДЕЙСТВИЕ ТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ НА ФЕРМЕНТАТИВНУЮ АНТИОКСИДАНТНУЮ СИСТЕМУ ПОЧВОПОКРОВНЫХ РАСТЕНИЙ

Мартынова Н.В., Лихолат Ю.В., Опанасенко В.Ф.

Ботанический сад Днепропетровского национального университета имени Олеся Гончара; пр. Гагарина, 72, 49010 Днепропетровск, тел. (380562)474306

E-mail: [Lykholat2006@ukr.net](mailto:Lykholat2006@ukr.net) (Лихолату Ю.В.), [tolos@i.ua](mailto:tolos@i.ua)

Известно, что разнообразные загрязнители атмосферы, образующиеся в результате антропогенной деятельности, попадая в растения, вызывают окислительный стресс и образование свободных радикалов. При этом важным свойством растений является способность к активированию своих антиоксидантных систем в неблагоприятных условиях. Это происходит за счет увеличения активности отдельных компонентов этой системы или индуцируются сразу несколько компонентов. В связи с этим считаем важным проанализировать влияние разнокачественных выбросов промышленных предприятий и автотранспорта на активность про-антиоксидантных ферментов почвопокровных растений.

Было исследовано 12 видов почвопокровных растений (*Euphorbia cyparissias* L., *Anemone sylvestris* L., *Asarum europaeum* L., *Potentilla anserina* L., *Sedum acre* L., *Sedum reflexum* L., *Sedum spurium* Bieb., *Sedum kamtschaticum* Fisch., *Dendranthema arcticum* (L.) Tzvel., *Stellaria holostea* L., *Viola alba* Bess., *Campanula poscharskyana* Degen.), высаженных в зонах непосредственного воздействия эмиссий различных промышленных предприятий Днепропетровской области, а также возле автотрассы с интенсивным движением транспорта. Условным контролем служили растения коллекции Днепропетровского ботанического сада.

Было выявлено, что загрязнение окружающей среды ингредиентами промышленных и автомобильных выбросов способствует нарушению сбалансированного хода физиологических процессов в клетках, который вызывает в свою очередь активацию ферментов системы антиоксидантной защиты: супероксиддисмутазы, каталазы, пероксидазы и полифенолоксидазы. Отмечалось как увеличение, так и уменьшение активности данных энзимов у почвопокровных растений по сравнению с контролем в зависимости от напряженности действия стрессового фактора, восприимчивости организма и стадии развития растений.

Действие отрицательных факторов приводит к перестройке метаболизма растений, а смещение про-антиоксидантного равновесия в направлении активации перекисного окисления липидов (ПОЛ) является сигналом запуска стресса-реакции. Проведенный анализ градиентов

активности антиоксидантных ферментов и интенсивности процессов ПОЛ показал, что некоторые виды очень успешно справляются с нагрузкой отрицательного влияния разнокачественного загрязнения. Прежде всего это виды рода *Sedum*, *Euphorbia cyparissias* и *Potentilla anserina*.

## **СОДЕРЖАНИЕ КАДМИЯ В РАСТЕНИЯХ УРБООКОСИСТЕМ В УСЛОВИЯХ ГОРОДСКОГО АТМОТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ**

Масленников П.В., Скрыпник Л.Н., Фролов Е.М., Суханова В.В.

Российский государственный университет им. И. Канта; ул. Университетская, 2, 236040, г. Калининград, тел.: (4012)533263

E-mail: [pashamaslennikov@mail.ru](mailto:pashamaslennikov@mail.ru)

В условиях современного роста городов, промышленного строительства и развития автотранспорта происходит загрязнение среды обитания некоторыми тяжелыми металлами. В связи с этим, особый интерес для эколого-физиологических исследований представляет кадмий, относящийся к металлам первого класса опасности. Поскольку кадмий является сравнительно новым элементом для биосферы общие механизмы защиты растений от его токсического действия остаются не до конца изученными. В качестве объектов исследования использовались наиболее распространенные индикаторные виды древесных и травянистых растений урбозоосистем г. Калининграда. В растительных тканях ели обыкновенной (*Picea abies* (L.) Karst.), липы сердцевидной (*Tilia cordata* Mill.), одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* Webb.), подорожника большого (*Plantago major* L.) определялось содержание кадмия методом атомно-абсорбционной спектроскопии (Varian AA 240 FS). Сбор материала (кора, хвоя, листья) проводился на исследовательских участках (ИУ) в течение 2009 г. Для исследования были заложены 6 постоянных пробных площадок на территории г. Калининграда на основных автомагистралях областного центра. Контрольный участок располагался на значительном удалении от городской черты (более 40 км), на территории «Национального парка Куршская коса». Показано, что в растительных пробах г. Калининграда выявлено значительное превышение фонового уровня кадмия. Максимальное накопление кадмия наблюдалось у растений на ИУ2: концентрация Cd в листьях и коре липы сердцевидной превышала аналогичный показатель в контроле в 4 и 4,3 раза, в хвое и коре ели обыкновенной – в 3,4 и 3,1 раза соответственно. Содержание ионов кадмия

в листьях одуванчика лекарственного и подорожника большого на ИУ2 в среднем было выше контрольного уровня в 4,3 и 2,7 раза. У древесных растений наибольшее накопление кадмия наблюдалось в коре: у сосны содержание кадмия в среднем было выше на 25%, у липы – на 45% по сравнению с его содержанием в листьях и хвое данных растений. Фоновое содержание кадмия в листьях подорожника было выше в 2,3 раза по сравнению с его содержанием в растениях одуванчика. Содержание кадмия (контроль) в листьях одуванчика составило  $0,15 \pm 0,01$  мг/кг в листьях подорожника –  $0,35 \pm 0,03$  мг/кг. В городской черте растения подорожника накапливали кадмий в меньшей степени, чем растения одуванчика, но содержали более высокий уровень металла. В листьях одуванчика его содержание составило  $0,65 \pm 0,04$  мг/кг, в листьях подорожника –  $0,94 \pm 0,06$  мг/кг. Анализ данных по содержанию кадмия позволил выявить положительную корреляционную зависимость между его содержанием в растительных тканях исследуемых растений и интенсивностью движения автотранспорта ( $r \approx 0,7-0,88$ ). Высокая корреляционная зависимость свидетельствует о значительном вкладе автомобильных выбросов в превышение фонового уровня кадмия в растениях урбофитоценозов г. Калининграда.

## **НАТИВНЫЙ ЭЛЕКТРОФОРЕЗ БЕЛКОВ ПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ ГАЛОТОЛЕРАНТНОЙ МИКРОВОДОРОСЛИ *Dunaliella maritima* (Massjuk)**

Маталин Д.А., Попова Л.Г., Балнокин Ю.В.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая, 35, 127276 Москва, тел.: (499)2318334, факс: (495)9778018

E-mail: [dmatalin@mail.ru](mailto:dmatalin@mail.ru)

Известно, что белки в мембранах формируют мультимолекулярные комплексы. К ним относятся крупные белковые ансамбли, например, система окислительного фосфорилирования в митохондриях или фотосистемы хлоропластов, а также мультисубъединичные ферменты, такие, как вакуолярные или митохондриальные АТФазы (Gruber et al., 2001; Randelj et al., 2007). Задачей настоящей работы является поиск и исследование белковых комплексов плазматической мембраны (ПМ) галотолерантной монадной зеленой водоросли *Dunaliella maritima*. Один из экспериментальных подходов в исследовании мембранных белковых комплексов – голубой нативный электрофорез (Blue Native

Electrophoresis, BNE), который, за счет применения мягких нейтральных детергентов, позволяет сохранять нативные молекулярные комплексы в процессе электрофоретического разделения белков (Schagger, Jagow, 1991). Мы проводили эксперименты на выделенных из клеток *D. maritima* мембранных фракциях, обогащенных ПМ. Для мягкого разрушения мембран применяли тритон X100 (0,2 – 2%) или дигитонин (2-5%). Лучших результатов удалось достичь при применении дигитонина, причем для используемого диапазона концентраций последнего результаты электрофоретического разделения белков практически не различались. После окрашивания гелей белковые полосы проявлялись, большей частью, в высокомолекулярной области (более 300 кДа), что позволяет предположить наличие мультимолекулярных белковых комплексов в ПМ *D. maritima*.

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований, грант № 10-04-01456-а.

## **АПОПЛАСТНЫЙ КОНТРОЛЬ РЕДОКС-СИГНАЛОВ В РАСТЕНИЯХ ПРИ СТРЕССЕ**

Минибаяева Ф.В.

Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН; ул. Лобачевского, 2/31, 420111 Казань, тел.: (843)2319045, факс: (843)2927347

E-mail: [minibayeva@mail.knc.ru](mailto:minibayeva@mail.knc.ru)

В качестве резервуара информации о биотическом и абиотическом окружении клетки апопласт вовлечен в генерацию и/или рецепцию стрессовых сигналов и последующий контроль роста и защиты растительных клеток. Изучение связи редокс-процессов, происходящих на поверхности клеток, с внутриклеточными событиями является важным для понимания редокс-сигнализации при выживании или гибели клеток. Несмотря на проводимое интенсивное исследование, природа апопластных источников АФК в ходе ранних стрессовых ответов растительных клеток до сих пор остается предметом дискуссионным. Основные АФК-синтезирующие системы в апопласте - это связанные с клеточной стенкой оксалактоксидазы, пероксидазы и аминоксидазы, а также мембраносвязанные НАД(Ф)Н-оксидазы. Различные ферментные системы, вносящие вклад в окислительный взрыв, могут работать кооперативно, способствуя амплификации редокс-сигнала. Среди апопластных белков, индуцируемых при формировании иммунитета растений,



ключевую роль играют пероксидазы III класса (EC 1.11.1.7). Множественность генов растительных пероксидаз обусловлена их дупликацией и высокой консервативностью, что обеспечивает возможное ре-программирование этих генов и синтез изоформ, обладающих различными функциями. Кроме того, вовлечение этих белков во многие физиологические процессы при стрессе и в ходе развития растения определено версатильностью катализируемых ими реакций. Стресс-индуцированный окислительный взрыв провоцирует запуск различных сигнальных путей, локализованных в плазматической мембране. При этом может происходить формирование новых сигнальных платформ, обеспечивающих закоривание и обогащение сигнальных молекул. Подобные платформы формируются из липидных микродоменов (рафтов), обогащенных стеринами и сфинголипидами, причем воздействие на один липидный компонент вызывает существенные изменения в другом. Так, истощение мембранных стеринов путем их связывания нистатином приводит к драматическим изменениям в составе и молекулярных видах сфинголипидов, что, в свою очередь, индуцирует изменения в мембранной активности. Функционирование АФК в качестве сигнальных молекул в клетках растений и редокс-зависимая передача информационного сигнала путем активации протеинкиназ, гуанилат- и аденилатциклаз, нуклеаз, фосфолипаз и протеаз обеспечивается также в результате поступления  $Ca^{2+}$  из апопласта и высвобождения его из внутриклеточных депо, работы калиевых каналов и протонной помпы плазмалеммы. Сочетание в апопласте комплекса факторов, таких как буферные свойства и редокс-активность клеточной стенки, проводимость и сенсорные свойства плазмалеммы, концентрация ионов кальция, калия и протонов, опосредует регуляторные и токсические эффекты активированного кислорода при стрессе.

## **АПИКАЛЬНОЕ ДОМИНИРОВАНИЕ И СТРЕСС НА ПРИМЕРЕ РАЗВИТИЯ ЦВЕТОЧНЫХ ПОЧЕК *Rhododendron luteum Sweet* И *Chamaedaphna calyculata* L. (Ericaceae), ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В ОТКРЫТОМ И ЗАКРЫТОМ ГРУНТЕ**

Миргородская О.Е., Мирославов Е.А.

Учреждение Российской Академии наук Ботанический институт  
им. В.Л. Комарова РАН, ул. Проф. Попова, 2, 197376, Санкт-Петербург  
E-mail: [mirgolga@ya.ru](mailto:mirgolga@ya.ru)

Влияние температурного режима на развитие растений давно и активно изучается многими учеными. Пониженные температуры в

таких исследованиях рассматриваются как стрессовый фактор. Но из агрономической практики известно, что отсутствие пониженных температур в период формирования цветочных почек (ноябрь-декабрь) отрицательно сказывается на развитии генеративной сферы растений. На примере двух видов кустарников *Rhododendron luteum* Sweet (интродуцент) и *Chamaedaphna calyculata* L. (местный вид), принадлежащих сем. Ericaceae, проводили комплексное субмикроскопическое исследование строения пыльцевых зерен и стенки пыльника. Цветочные почки фиксировали два раза в месяц в течение года, захватывая весь цикл репродуктивного развития от цветения до цветения, и обрабатывали методами рутинной электронной просвечивающей микроскопии. Световое исследование выполнено на полутонких срезах.

Растения указанных видов произрастают на территории Ботанического сада БИН РАН СПб в открытом грунте. Вторая группа растений была специально перенесена в оранжерею (закрытый грунт) с постоянной температурой воздуха +22С. Растения закрытого грунта, лишенные пониженных температур, проходят все стадии воздействия стресса, описанные в работах Г.Селье об общем адаптационном синдроме (ОАС) на примере животных и человека. В первое время их внешний вид не отличается от растений открытого грунта, затем происходит активация всех ресурсов, цветение и постепенное истощение. Отсутствие пониженных ночных температур в осенне-зимний период изменяет не только внешний вид, но характер и интенсивность цветения растений. У *Rh. luteum* хотя и формируется морфологически полноценная пыльца в условиях закрытого грунта, но значительно снижается интенсивность цветения: из 15 цветков соцветия распустились только 2-3 верхушечные почки. Аналогичная картина наблюдается и у *C. calyculata* в закрытом грунте. Растение зацветает, но только несколькими цветками на верхушке побега. Остальные цветочные почки постепенно погибают до периода цветения. Такую картину можно объяснить донорно-акцепторными взаимодействиями между разновозрастными меристемами. Более молодые (позднее заложенные) меристемы апикальных цветочных почек, при общем истощении на фоне длительного стресса, получают больше питательных веществ для формирования полноценной пыльцы. Отцветшие растения выглядят угнетенными и истощенными. После переноса в парк лиственной покров растения восстанавливаются, появляются новые побеги, но новые цветочные почки в этом сезоне не закладываются. Таким образом, отсутствие пониженных температур в осенне-зимний период является сильным стрессовым фактором, который влияет на формирование цветочных почек и запускает механизм апикального доминирования в соцветиях.

## РЕАКЦИЯ РАЗНЫХ СОРТОВ КАРТОФЕЛЯ НА ПОВЫШЕННЫЕ КОНЦЕНТРАЦИИ NaCl *in vitro*

Митина А.М.\* , Собољкова Г.И.\*\* , Юрьева Н.О.\*\* , Беляев Д.В.\*\*

\* Московский Государственный Институт инженерной экологии, г. Москва

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

E-mail: [yuorieva@mail.ru](mailto:yuorieva@mail.ru)

Чтобы выявить реакцию на повышенные концентрации NaCl, асептические растения сортов картофеля Скороплодный, Удача, Малиновка, Юбилей Жукова и Жуковский ранний были расчерченкованы на агаризованную МС среду с 2% сахарозы и с содержанием NaCl – 0, 100 и 200mM. Растения выращивали при +24-25С°, освещенности 6000люкс, 16-часовом фотопериоде в течение 5 недель. Учеты прироста в длину побега и корня проводили с 7-дневными интервалами, в конце эксперимента определяли сухой вес и накопление ионов Na<sup>+</sup>. На среде с 100mM NaCl наименьшее угнетение роста побегов наблюдали у сорта Юбилей Жукова (на 39%) и Малиновка (на 55%), сильнее всего был угнетен рост побегов с. Скороплодный (на 87%), показатели угнетения роста сортов Удача и Жуковский ранний были на уровне 65-63%. На среде с 200mM NaCl рост побегов Юбилей Жукова был угнетен на 86%, с. Малиновка – на 84%, с. Скороплодный – на 95%. Активный рост корня на среде с 100mM NaCl у всех сортов наблюдался в течение первой недели. Наиболее сильное угнетение роста корня наблюдали у с. Жуковский ранний (35.7%), у сортов Юбилей Жукова и Малиновка наблюдали усиление роста корня на 23.5 и 23.8% соответственно. На среде с 200mM NaCl меньше всего был угнетен рост корня у с. Юбилей Жукова (на 23.8%), сильнее всего у с. Жуковский ранний (на 94.7%) и с. Малиновка (на 84.1%). Наиболее сильное снижение показателя сухого веса на среде с 100mM NaCl наблюдали у с. Скороплодный (80.0%), наименьшее – у с. Удача (10.3%), у с. Юбилей Жукова – на 46.1%. На среде с 200mM NaCl показатель сухого веса сильно снизился у всех сортов, особенно у с. Скороплодный – на 87%. Наибольшее увеличение накопления ионов Na<sup>+</sup> на среде с 100mM NaCl наблюдали у с. Удача (в 8.2 раза в сравнении с контролем), наименьшее – у с. Юбилей Жукова (в 1.9 раз). На среде с 200mM NaCl растения с. Скороплодный накапливали меньше ионов Na<sup>+</sup> (в 1.2 раза больше, чем в контроле), растения с. Юбилей Жукова – 6.5 раз больше по сравнению с контролем. Эксперименты по изучению механизмов устойчивости растений картофеля к повышенным концентрациям солей продолжаются.

## **ИОНОМИКА – ИННОВАЦИОННЫЙ КОМПЛЕКСНЫЙ ПОДХОД К ИЗУЧЕНИЮ ИОННОГО ГОМЕОСТАЗА**

Михальская Л.Н.\*; Моргун Б.В.\*; Швартау В.В.\*; Волков К.С.\*\*;  
Холодова В.П.\*\*; Кузнецов Вл.В.\*\*

\* Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины, 03022 Киев-22, ул. Васильковская, 31/17, тел./факс: +38044 257 90 18

\*\* Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая, 35, 127276, Москва, тел: (499)231-83-67, факс: (495)977-80-18

E-mail: schwartau@ifrg.kiev.ua (Швартау В.В.); vlkuzn@ippras.ru (Кузнецов Вл.В.)

Иономика – новое самостоятельное направление исследований ионного гомеостаза растений, объединившее изучение роли металлов (металломика) с исследованиями биологически значимых неметаллов. Качественный состав и количественное содержание всех неорганических ионов в растении характеризует его ионом, иначе обозначаемый как “элементный профиль” или “ионный паспорт”. Прогресс в изучении иономов растений определился развитием в последние десятилетия методической основы элементного анализа. Основными методами являются атомно-адсорбционная спектроскопия (AAS), оптическая эмиссионная спектроскопия, основанная на индуктивно-связанной плазме (ICP-OES) и масс-спектроскопия (ICP-MS). Дополнительные возможности дает ионная хроматография, позволяющая измерить активности ионов во многокомпонентных биологических системах.

Тем не менее, к настоящему времени опубликовано всего несколько работ, в которых проведен полный анализ иономов растений, среди которых несколько экотипов арабидопсиса, лядвенец и несколько таксонов – представителей дикой флоры.

Важным шагом в исследовании физиологической интеграции является выполненное в лаборатории J.Корка (Germany) мультивариантное корреляционное изучение метаболомных и иономных профилей, что позволило диагностировать характерные признаки интенсивности солевого стресса и выявить потенциальные предикторы степени накопления соли в тканях растений, нарушения роста и их конечной биомассы. Тем не менее, иономы важнейших сельскохозяйственных культур, в частности пшеницы, в настоящее время не исследованы.

На протяжении последних лет мы работаем над исследованием физиолого-генетических механизмов минерального питания растений озимой пшеницы и других культур. К настоящему времени созданы и зарегистрированы специализированные для озимой пшеницы

комплексные минеральные удобрения, что явилось результатом исследований ионного профиля культуры с применением современных эффективных и высокоточных методов. На новые удобрения и системы питания получены 4 патента Украины. Разработки: системы питания пшеницы и других культур; новые удобрения: внедрены на площади более 200 тыс. га.

Уряда высокопродуктивных сортов озимой пшеницы впервые показана достоверная корреляция между компонентами минерального питания и протеканием ключевых физиологических процессов у различных сортов озимой пшеницы.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке совместного научного проекта РФФИ/НАНУ 56-04-10 (У)/международного гранта 10-04-90456-Укр\_а «Ионом растений и его регуляция» и проекта НАНУ 54-мб/2010 «Молекулярные основы регуляции ионама высокоурожайных сортов озимой пшеницы», а также программы президиума РАН «молекулярная и клеточная биология».

## **РАСТЕНИЕ И МЕХАНИЧЕСКИЙ СТРЕСС: РАЗВИТИЕ «МЫШЕЧНОЙ СИСТЕМЫ» ИЗ РАСТИТЕЛЬНЫХ ВОЛОКОН С КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКОЙ ЖЕЛАТИНОЗНОГО ТИПА**

Мокшина Н.Е., Ибрагимова Н.Н., Снегирева А.В., Горшкова Т.А.

Учреждение Российской академии наук Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН; ул. Лобачевского 2/31, 420111, Казань, а/я 30, тел.: (843)2927535, факс: (843)2927347  
E-mail: [gorshkova1953@mail.ru](mailto:gorshkova1953@mail.ru) (Горшковой Т.А.), [natalali@list.ru](mailto:natalali@list.ru)

В жизни растений, как и любых других организмов, часто встречаются механические стрессы; иногда они тесно смыкаются с гравитационными. В этих случаях ареной многих ответов растительного организма служит клеточная стенка. Именно наличие клеточной стенки приводит к существенным отличиям в реакции растений и животных: с некоторой долей приближения можно сказать, что растительные ткани реагируют на механические воздействия как твердые тела, а животные – как жидкости (Hamant et al. 2008).

Одной из составляющих механического стресса в растении является развитие своеобразной «мышечной системы» - волокон с мощно развитой вторичной клеточной стенкой особого, желатинозного, типа, которая обладает контрактильными свойствами. Такие волокна играют в растении роль «мускулов», которые позволяют перемещать в

пространстве отдельные части организма. Формирование клеточной стенки желатинозного типа может быть конститутивным, как в случае с травянистыми растениями с длинным тонким стеблем, так и индуцируемым, как, например, в волокнах реакционной древесины. В докладе будут представлены механизмы формирования и функционирования клеточных стенок этого типа, а также гипотезы о природе сигнала, запускающего формирование клеточной стенки желатинозного типа, и способах его передачи.

## **ПЕРЕДАЧА ЭТИЛЕНОВОГО СИГНАЛА: CTR1 – ВОПРОСЫ И ОТВЕТЫ**

Мошков И.Е., Степанченко Н.С., Новикова Г.В.

Учреждение Российской академии наук Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, 127276, г. Москва, ул. Ботаническая, 35, тел. (495) 977-93-45, факс (495) 977-80-18

E-mail: [moshkov@ippras.ru](mailto:moshkov@ippras.ru)

Ответные реакции растений на стрессы – явления сложные, многокомпонентные. При этом практически не бывает одного вида стресса “в чистом виде”. Это в значительной степени осложняет исследование механизмов восприятия и передачи стрессовых сигналов и формирования ответных реакций на стресс. Однако практически все виды стрессов сопровождаются увеличением продукции этилена, в связи с чем этилен часто позиционируют как “стрессовый гормон”. Несомненно, этилен играет важную роль в формировании ответной реакции растения на стресс, поскольку, как и другие фитогормоны, контролирует множество процессов на самых разных уровнях. Поэтому исследования по рецепции этилена и передаче его сигнала имеют важное значение в понимании формирования растением ответов на стрессы.

Исследование этилен-нечувствительных мутантов арабидопсиса привело к открытию основных компонентов, участвующих в восприятии этилена и передаче его сигнала. Восприятие этилена осуществляется пятью рецепторами (ETR1, ETR2, ERS1, ERS2 и EIN4), сигнал с которых передается к МАП3-киназе CTR1. Далее расположен белок с неизвестной функцией, но имеющий гомологию с переносчиками двухвалентных катионов EIN2, а затем – факторы транскрипции EIN3/EIL и ERF. Особенность описанного сигнального пути этилена состоит в том,

что рецепторы и CTR1 являются негативными регуляторами, то есть в отсутствие этилена они находятся в сигнально активном состоянии и блокируют работу нижележащих компонентов, тогда как связывание гормона с рецепторами ведет к выключению сигнального пути и активации этилен-зависимых факторов транскрипции. В результате функционирования последних формируется ответ на этилен. Описанная последовательность событий известна в литературе как “линейный путь” передачи этиленового сигнала.

Однако в работах разных авторов, а также наших исследованиях получены данные, не укладывающиеся в описанную выше схему. В связи с этим ранее нами было предположено наличие иного, CTR1-независимого, пути передачи этиленового сигнала. Но возможно также и иная интерпретация данных. Центральным компонентом, на котором строится весь линейный путь передачи этиленового сигнала, – это CTR1, который рассматривается в качестве МАПЗ киназы гомологичной Raf киназам животных. Этот постулат строится на наличии гомологии в нуклеотидной последовательности CTR1 и Raf киназ. Как показывают наши данные, не меньшую гомологичность CTR1 имеет и со скаффолд-белком животных клеток KSR1. Если допустить, что CTR1 выполняет функцию не МАПЗ киназы, а скаффолд-белка, то многие противоречия разрешаются. В докладе будут обсуждены обе гипотезы о роли CTR1 в передаче этиленового сигнала.

Работа авторов проводится при частичной поддержке РФФИ, грант №08-04-00643.

## **РОЛЬ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ В АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ *Sium latifolium* К УМЕРЕННОМУ ВОДНОМУ ДЕФИЦИТУ**

Недуха Е.М., Котенко Т.Б.

Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины; ул. Терещенковская, 2, 01601. Киев, Украина, тел.: +38(044)2723236, факс: +38(044)2723236

E-mail: [o.nedukha@hotmail.com](mailto:o.nedukha@hotmail.com)

Целью работы было изучение роли целлюлозы (Ц) в адаптации растений *Sium latifolium* L. к умеренному водному дефициту в природных условиях. Исследование проводили на листьях воздушно-водной и суходольной экоформ *S. latifolium*, находящихся в фазе вегетативного роста, бутонизации и начала плодоношения. Влажность почвы, на которой росли воздушно-

водные растения в процессе онтогенеза, составляла около  $80 \pm 2\%$ , тогда как для сухолюбивых растений она снижалась от 42 до  $29 \pm 5\%$ , соответственно фазам роста. В опытах использовали биохимические методы по Ермакову и цитохимические методы с использованием калькофлуора и последующим определением относительного содержания Ц в клеточных стенках различных тканей методом лазерно-конфокальной микроскопии. Установлено, что водный дефицит оказывал влияние на содержание исследуемого полисахарида: выявлено постепенное увеличение общего содержания Ц в листьях в процессе онтогенеза. Также отмечено влияние водного дефицита на снижение аморфной формы Ц и увеличении ее кристаллической формы. В надводных листьях воздушно-водных растений соотношение аморфной/кристаллической формы целлюлозы в фазе вегетативного роста составляло 1,93; в фазе бутонизации – 0,61, и в начале плодоношения – 0,32, соответственно. Тогда как в листьях растений, произрастающих в условиях водного дефицита, соотношение аморфной/кристаллической формы целлюлозы достоверно было ниже и составляло соответственно 1,02; 0,46 и 0,16. С помощью программы PASCAL выявлено, что относительное содержание целлюлозы в клеточных стенках зависит от ткани и условий роста растения. Наиболее чувствительные к водному дефициту выявились клеточные стенки эпидермиса листьев. Учитывая данные, что молекулы аморфной целлюлозы способны адсорбировать на себе молекулы воды, тогда как молекулы кристаллической целлюлозы не обладают такими способностями, можно предположить что усиленный синтез кристаллической целлюлозы в листьях растений при водном дефиците способствует водоудерживающей способности клеток и участвует в механизме адаптации к исследуемому воздействию.

## **ИЗМЕНЕНИЕ ЛИПИДНОГО МЕТАБОЛИЗМА В КЛЕТКАХ *HYDRILLA VERTICILLATA* ПОД ДЕЙСТВИЕМ $\text{Cu}^{2+}$ И $\text{Cd}^{2+}$**

Нестеров В.Н.\*, Розенцвет О.А.\*, Синютина Н.Ф.\*\*

\* Институт экологии Волжского бассейна РАН; ул. Комзина 10, 445003 Тольятти, тел.: (8482) 489977, факс: (8482) 489504

\*\* Санкт-Петербургский государственный университет, Университетская наб., 7-9, 199034 Санкт-Петербург, тел.: (812) 4506288  
E-mail: [nesvik1@mail.ru](mailto:nesvik1@mail.ru) (Нестеров В.Н.), [olgarozen@pochta.ru](mailto:olgarozen@pochta.ru), [fam-bio@mail.ru](mailto:fam-bio@mail.ru)

Накопление тяжелых металлов (ТМ) в почве и воде вынуждает растения, приспосабливаться к новым условиям, запуская свои



компенсаторные механизмы, во многом, связанные с устойчивостью мембран. Большую стабильность мембран устойчивых растений связывают с изменениями в составе липидов, которые обеспечиваются изменением интенсивности липидного обмена, а также альтернативными путями их синтеза.

Цель работы состояла в выявлении приспособительных и компенсаторных ответов растений с участием липидов на воздействия  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Cd}^{2+}$  на примере высшего водного растения *Hydrilla verticillata* (L. fil.) Royle.

Растения инкубировали в присутствии 100 мкМ  $\text{Cu}^{2+}$  или  $\text{Cd}^{2+}$  (в форме нитратов) в течение 1, 3 и 24 ч в условиях освещения –  $1400 \pm 200$  лк при 10-часовом световом дне и температуре 20°C. Дифференциальным центрифугированием из тканей растений выделены фракции, обогащенные хлоропластами, митохондриями и микросомами.

Показано, что кратковременное воздействие (1 ч)  $\text{Cu}^{2+}$  приводило к увеличению липидов в клетках растений. Однако через 3 ч экспозиции содержание липидов снижалось (на 12-43 %) и к 24 ч было ниже контрольных в 2-3 раза. Под действием  $\text{Cd}^{2+}$  содержание липидов снижалось уже через 1 ч инкубации. Количество липидов снижалось в большей степени в пластидах, в сравнении с митохондриями и микросомами. При этом в составе липидов наблюдали снижение полярных фосфолипидов (ФЛ) и гликолипидов (ГЛ), и увеличение содержания нейтральных липидов. В ФЛ субклеточных фракций, особенно после 24 ч воздействия ТМ, снижалось содержание основных структурных компонентов (ФХ и ФЭ) и возрастало содержание ФК (более чем в 3 раза), особенно в хлоропластах и митохондриях. Общий уровень хлоропластных ГЛ также снижался, однако изменение соотношения МГДГ /ДГДГ зависело от иона металла: под действием  $\text{Cu}^{2+}$  в растениях после 24 ч экспозиции эта величина составляла 1.1, а под действием  $\text{Cd}^{2+}$  – 2.5 против контроля – 2.4. Ненасыщенность жирных кислот в липидах хлоропластов снижалась в 1.5-2.8, в митохондриях – в 1.3, в микросомах – 1.8-4.3 раз.

Методом радиоактивных изотопов установлено, что под действием  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Cd}^{2+}$  значительно усиливается включение [метил- $^{14}\text{C}$ ] метионина в ФХ и ФЭ в хлоропластах и митохондриях. По-видимому, включается альтернативный путь синтеза ФХ и ФЭ, за счет трансметилирования.

Все изменения в составе липидов и липидном метаболизме *H. verticillata* направлены на стабилизацию мембран как механизм адаптации растения к стрессу.

## **ВЛИЯНИЕ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА ФОТОМИКСОТРОФНУЮ КАЛЛУСНУЮ КУЛЬТУРУ ЧАЙНОГО РАСТЕНИЯ И ОБРАЗОВАНИЕ В НЕЙ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ**

Нечаева Т.Л., Трифонова А.В., Загоскина Н.В.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая, 35,  
127276 Москва, тел.: (495)9779433, факс: (495)9778018  
E-mail: [phenolic@ippras.ru](mailto:phenolic@ippras.ru)

Фенольные соединения высших растений привлекают все большее внимание исследователей в связи с чрезвычайным разнообразием выполняемых ими функций, в том числе связанных с защитой от стрессовых воздействий. Они также являются сигнальными молекулами, запускающими каскад реакций для формирования защитного ответа клетки. Это относится и к салициловой кислоте, способствующей активации сигнальных систем и формированию системы защиты клеток, в том числе за счет накопления фенольных соединений (ФС) – веществ, обладающих высокой антиоксидантной активностью.

Целью работы являлось изучение влияния различных концентраций салициловой кислоты на фотомиксотрофную каллусную культуру стебля чайного растения и накопление в ней ФС.

Культуры выращивали при 16-час. фотопериоде на модифицированной питательной среде Хеллера, содержащей 2,4-Д (5 мг/л), глюкозу (25 г/л) и агар (7%). Каллусы 20-дневного возраста выдерживали 2 часа в водных растворах салициловой кислоты (от  $10^{-3}$  до  $10^{-6}$  М) или в воде (контроль), а затем культивировали в течение 10 дней на основной питательной среде. Анализировали морфофизиологические характеристики каллусов, их прирост, оводненность, а также содержание суммы растворимых фенольных соединений (ФС) и флаванов (ФЛ).

Фотомиксотрофная культура чая представляла собой хорошо растущие плотные каллусы желтоватого цвета, на поверхности которых располагались окрашенные в зеленый цвет клетки. Воздействие салициловой кислоты не приводило к изменениям оводненности и морфофизиологических характеристик каллусов, но способствовало снижению их прироста при концентрациях  $10^{-3}$ - $10^{-5}$  М (почти вдвое по сравнению с контролем). Эти изменения сопровождалось снижением содержания в них ФС (примерно на 20%) и увеличением накопления ФЛ.

Следовательно, воздействие салициловой кислоты приводит к изменениям в биосинтезе ФС у фотомиксотрофной каллусной культуры стебля чайного растения, за счет повышения образования ФЛ (основных компонентов фенольного комплекса).

## **ДЕФИЦИТ СВЕТА ЛИМИТИРУЕТ НИТРАТНЫЙ СИГНАЛИНГ САХАРОЗОСИНТАЗЫ У *Pisum sativum* L.**

Никитин А.В., Брускова Р.К., Измайлов С.Ф.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; 127276 Москва, ул. Ботаническая, 35, тел.: (499)2318349, факс: (495)9778018

e-mail: [nitrogenexchange@mail.ru](mailto:nitrogenexchange@mail.ru)

В последние годы наряду с субстратной ролью нитрата важное значение придается его участию как сигнального агента в регуляции и взаимодействии С- и N-метаболизма, затрагивающего экспрессию более 1/2 транскриптома. Ранее нами был выявлен позитивный нитратный сигналинг по отношению к сахарозосинтазе (СС), что можно рассматривать как новый механизм сопряжения N- и С-обмена, происходящего уже на стартовом уровне диссимиляции сахарозы. В этих условиях репрограммирования С- и N-метаболизма значение С-статуса растения оказалось практически не исследованным. Исходя из этого, целью работы было изучение проявления нитратного сигналинга СС у гороха в разных условиях обеспечения С-метаболитами при стрессовой (3клк) и оптимальной (20клк) интенсивности освещения. Выявлена позитивная регуляция нитратом ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  и  $\text{KNO}_3$ , 14,2 мМ) СС в корнях как при гетеротрофном, так и автотрофном питании в условиях освещенности 20клк. Прирост активности СС составлял до 100%. При стрессовом дефиците света (3клк) нитратзависимая активность СС отсутствовала, одновременно падал уровень сахарозы в листьях в 5-6 раз и в 2 раза в стеблях и корнях. Таким образом, можно предположить, что условием  $\text{NO}_3^-$ -сигналинга СС является величина пула сахарозы — второй его составляющей, что определяется мобилизацией запасного крахмала семядолей или  $\text{CO}_2$ -ассимиляцией. Наличие интеграции С- и N-сигналов при регуляции активности СС нитратом позволяет также говорить о важной роли С/N статуса, изменение которого при стрессовых факторах может привести к минимизации всего процесса ассимиляции азота растениями.

## **ИЗМЕНЕНИЯ В ОБРАЗОВАНИИ МОНОМЕРНЫХ И ОЛИГОМЕРНЫХ ФОРМ ФЛАВАНОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ В КУЛЬТУРЕ ТКАНИ ЧАЯ ПОД ДЕЙСТВИЕМ КАДМИЯ.**

Николаева Т.Н., Гончарук Е.А., Лапшин П.В., Загоскина Н.В.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая, 35, 127276 Москва, тел.: (495)9779433, факс: (495)9778018  
E-mail: *phenolic@ippras.ru*

Кадмий является одним из наиболее распространенных поллютантов, для которого характерна высокая подвижность в почвенном растворе, быстрое поступление в растения и, как следствие, развитие окислительного стресса. К числу веществ-антиоксидантов относятся фенольные соединения (ФС).

Удобным объектом для изучения регуляции фенольного метаболизма являются растения чая, а также инициированные из них каллусные культуры, для которых характерна способность к образованию различных флавановых производных, представленных как мономерными (катехины), так и олигомерными (проантоцианидины) формами.

Целью данной работы являлось изучение влияния кадмия на образование и состав флаванов в культуре ткани чайного растения.

Каллусные культуры стебля чайного растения выращивали в темноте на ранее модифицированной питательной среде Хеллера. В опытных вариантах к ней добавляли кадмий (в виде соли  $Cd(NO_3)_2$ ) в концентрациях  $6,3 \times 10^{-5}$  или  $10,6 \times 10^{-5}$  М. Длительность пассажа составляла 40 дней. ФС экстрагировали из каллусов 96%-ным этанолом. В экстрактах спектрофотометрическим методом определяли содержание флаванов - с 1%-ным раствором ванилина в 70%-ной серной кислоте (при 500 нм). Калибровочную кривую строили по (-)-эпикатехину. Состав ФС этанольных экстрактов каллусов исследовали методом ТСХ, используя систему растворителей н-бутанол:уксусная кислота:вода (4:1:5, верхняя фаза), с последующей денситометрией и проведением качественных реакций.

Выращивание каллусных культур чая на среде с  $6,3 \times 10^{-5}$  М кадмия способствовало увеличению содержания флаванов на 70% по сравнению с контролем, что не отмечалось при действии более высокой его концентрации ( $10,6 \times 10^{-5}$  М). Во всех случаях, в присутствии кадмия в питательной среде, в культурах отмечены одинаковые изменения в составе флаванов: возрастание доли катехинов и снижение - проантоцианидинов.

Все это свидетельствует об изменениях в метаболизме фенольных соединений в культурах чайного растения, растущих на средах с кадмием, в сторону накопления мономерных форм флаванов (катехинов), вероятно, за счет подавления образования их олигомерных форм (проантоцианидинов).

## **ДЕЙСТВИЕ СЛАБОГО ПОСТОЯННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА СОСТАВ И СОДЕРЖАНИЕ ЛИПИДОВ В ЛИСТЬЯХ И СЕМЕНАХ МАГНИТООРИЕНТАЦИОННЫХ ТИПОВ РЕДИСА**

Новицкая Г.В., Кочешкова Т.К., Добровольский М.В., Новицкий Ю.И.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая, 35, 127276 Москва, тел: (499)2318338, факс (495)9778018

E-mail: [yinov@ippras.ru](mailto:yinov@ippras.ru) (Новицкому Ю.И.)

Изучали действие слабого постоянного магнитного поля (ПМП) напряженностью  $\sim 400$  А/м на состав и содержание липидов в листьях взрослых растений и семенах магнитоориентационных типов (МОТ) редиса (*Raphanus sativus* L. var *radicula* D.C.) сорта Розово-красный с белым кончиком: северо-южного (СЮ) и западно-восточного (ЗВ), у которых плоскости ориентации корневых борозд расположены вдоль и поперек магнитного меридиана.

Растения выращивали весной в оранжерее фитотрона ИФР до 39-дневного возраста (листья) и в течение 3-4 месяцев (семена). Для анализа использовали 4-ый лист растений редиса. Отбор растений СЮ и ЗВ МОТ осуществляли с помощью секторной рамки, ориентированной относительно стрелки компаса. Слабое горизонтальное ПМП создавали с помощью колец Гельмгольца, питаемых постоянным током. Контрольные растения выращивали в ГМП. Полярные (ПЛ) и нейтральные (НЛ) липиды определяли с помощью метода ТСХ.

В контроле в листьях СЮ МОТ содержание ПЛ было в 4.5 раза ниже, чем НЛ. Среди ПЛ количество гликолипидов (ГЛ) оказалось в 3.7 раза больше, чем фосфолипидов (ФЛ). Среди НЛ основную массу составляли триацилглицерины (ТАГ). Под влиянием ПМП общее содержание липидов (ОСЛ), в том числе НЛ в листьях СЮ МОТ уменьшилось. Содержание ПЛ также понизилось, а количество ФЛ увеличилось. В 1.5 раза увеличилось отношение ФЛ/СТ. В контроле ОСЛ в листьях ЗВ МОТ в 1.7 раза меньше, чем в листьях СЮ МОТ, в том числе меньше содержание ПЛ и НЛ. Под действием ПМП в листьях ЗВ МОТ увеличилось ОСЛ, в том числе ТАГ. Повысилось также содержание ЭС и СС, а количество ПЛ уменьшилось. Содержание ФЛ не изменилось, т.к. содержание ФХ уменьшилось, а количество ФЭ увеличилось. Отношение ФЛ/СТ уменьшилось.

В семенах контроля СЮ МОТ ОСЛ, в том числе НЛ увеличилось в 1.4 раза по сравнению с содержанием липидов в исходных семенах: содержание ПЛ, напротив, уменьшилось. Под влиянием ПМП ОСЛ в семенах СЮ МОТ уменьшилось в 1.3 раза за счет снижения содержания НЛ. Количество ПЛ увеличилось на 60%, как и содержание ГЛ и ФЛ. Увеличилось отношение

ФЛ/СТ. В контроле ОСЛ семян редиса ЗВ МОТ уменьшилось по сравнению с липидами исходных семян за счет уменьшения количества ГЛ ~ в 2 раза. Отношение ФЛ/СТ увеличилось. ОСЛ в семенах ЗВ МОТ в контроле в 1.9 раза меньше их содержания в семенах СЮ МОТ. Под действием ПМП в семенах ЗВ МОТ уменьшилось ОСЛ за счет уменьшения содержания НЛ - ТАГ. ПМП не повлияло на содержание ПЛ.

В целом, в ПМП состав и содержание липидов в листьях взрослых растений и в семенах СЮ и ЗВ МОТ изменяется не одинаково, часто противоположно, что, по-видимому, вызвано их различной чувствительностью к действию поля, как стресс фактора, связанной с особенностями их физиологического статуса.

## **ИЗМЕНЕНИЯ ХОДА ОНТОГЕНЕЗА И СООТНОШЕНИЙ КОМПОНЕНТОВ ЛИПИДНОГО СОСТАВА ЛИСТЬЕВ РАСТЕНИЙ В СЛАБОМ ПОСТОЯННОМ ОДНОРОДНОМ МАГНИТНОМ ПОЛЕ**

Новицкий Ю.И.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая, 35, 127276 Москва, тел: (499)2318338, факс (495)9778018

E-mail: [yinov@ippras.ru](mailto:yinov@ippras.ru) (Новицкому Ю.И.)

Магнитосфера Земли и её «постоянная составляющая» – ПМП на протяжении всей её истории непрерывно изменяется по величине, структуре, спектральному составу и т.д. Влияние этого изменения на растительную биоту исследовано недостаточно. Изучали влияние слабого горизонтального ПМП напряженностью ~ 400 А/м (~5Э) на онтогенез, состав и содержание липидов листьев растений салата (*Lactuca sativa* L.) сорта «Каменная головка», редиса (*Raphanus sativus* L. var *radicula* D.C.) сорта «Розово-красный с белым кончиком», выращенных в фитотроне ИФРа на 16-часовом дне при 18-20°C или в оранжерее, а также периллы красной (*Perilla nankinesis* Lour Dence) на 12-часовом дне и при 14 клк и лука (*Allium cepa* L.) сорта «Арзамасский» в оранжерее на естественно возрастающей длине дня, температуре и освещенности. Объекты выращивали в кольцах Гельмгольца, создающих ПМП, контроль - в геомагнитном поле (ГМП). Онтогенез растений в ПМП и ГМП протекал неодинаково. Растения салата в ПМП на критической длине дня переходили к стрелкованию, растения редиса замедляли онтогенез: тормозилось наращивание очередных листьев, стрелкование, бутонизация, цветение, плодоношение, созревание семян. Бутонизация и цветение растений периллы в ПМП запаздывали

на несколько дней, рост пера лука ускорялся, увеличивалась его длина и число перьев. Анализ липидов проводили методами ТСХ и ГЖХ. Как и при анализе онтогенеза, растения периллы и лука, салата и редиса можно было отнести к разным группам по характеру изменения липидного состава листьев в ПМП. Так, общее содержание липидов в поле в листьях салата и редиса (ОСЛ) – падало почти на половину (40-50%), в то время как у периллы и лука оно возрастало на 1/3. Существенно (на 20-25%) снижалось количество полярных липидов в листьях салата и редиса и на половину оно возрастало у периллы и лука. Содержание нейтральных липидов в ПМП снижалось в листьях всех культур, кроме периллы. У салата и редиса в ПМП содержание всех гликолипидов снизилось на 20-40%, но оно существенно возросло у периллы и лука. На 15-30% снизилось в ПМП содержание фосфолипидов у салата и редиса и в 2 раза оно увеличилось у периллы и лука. Сумма стеринов в поле снизилась у всех культур, кроме листьев периллы. Отношение фосфолипиды /стерины для всех культур в поле возросло, что указывает на повышение текучести липидного бислоя мембран как показателя активных мобилизационных процессов против возможного негативного действия поля.

Таким образом, разнообразие ответных реакций на морфофизиологическом и биохимическом уровне у различных видов растений при воздействии слабым однородным ПМП налицо, однако вопрос о степени негативности его воздействия остается открытым и требует дальнейших исследований.

## **СУСПЕНЗИОННЫЕ КУЛЬТУРЫ КЛЕТКИ БЛИЗКИХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ *Thellungiella salsuginea* И *Arabidopsis thaliana* ПО-РАЗНОМУ ОТВЕЧАЮТ НА СОЛЕВОЙ СТРЕСС**

Носов А.В.\*, Таранов В.В.\*\* , Баранова Е.Н.\*\* , Шугаев А.Г.\* , Бабаков А.В.\*\*

\* Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая 35, 127276 Москва, тел.: (499)2318391, факс: (495)9778018

\*\* Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии РАСХН; ул. Тимирязевская 42, 127550 Москва, тел.: (495)9770938, факс: (495)9770947

E-mail: [alex\\_n@ippras.ru](mailto:alex_n@ippras.ru) (Носову А.В.)

Растение-экстремофит – *Thellungiella salsuginea* (Pall.) O.E Schulz, (T.s), родственное *Arabidopsis thaliana* (Heynh.), (A.t), проявляет высокую устойчивость к неблагоприятным факторам среды, в том числе к

засолению. Ограничение поступления  $\text{Na}^+$  в корневую систему T.s принято считать ведущим механизмом солеустойчивости этого растения. В тоже время, например, хорошо известен факт накопления пролина в надземной части T.s в ответ на солевой стресс. Следовательно, клетки и ткани листа реагируют на высокие прикорневые концентрации  $\text{Na}^+$ . Для того, чтобы выяснить насколько изолированные клетки T.s способны противостоять засолению, нами были получены стабильно растущие суспензионные культуры клеток из каллусных тканей сформированных на эксплантах зрелых листьев растений T.s (экотип Yakutsk) и A.t (экотип Columbia). Обе суспензионные культуры выращиваются более пяти лет на среде Шенка и Хильдебрандта, в одинаковых условиях. Индексы роста уменьшались на 50% при 75 мМ и 200 мМ NaCl в среде, для культур клеток A.t и T.s соответственно. После двухнедельного засоления (100 мМ NaCl) CN-чувствительное дыхание и восстановление хлорида трифенилтетразолия повышалось в два раза в культивируемых клетках T.s, при этом обратная ситуация была характерна для клеток A.t. Накопление ионов натрия и пролина в клеточном соке T.s в два раза превышало аналогичные показатели для клеток A.t. При этом отмечалось увеличение объема вакуолей клеток T.s и наличие характерных ультраструктурных признаков высоко энергизированного состояния митохондрий. По всей видимости, T.s реализует стратегию нескольких "линий обороны" и сопротивляется засолению не только на уровне целого растения, но и на уровне клеток.

## **ВЛИЯНИЕ ВОДНОГО РЕЖИМА НА СОДЕРЖАНИЕ КАЛЛОЗЫ В КЛЕТОЧНЫХ ОБОЛОЧКАХ ЭПИДЕРМИСА И МЕЗОФИЛЛА ЛИСТЬЕВ *ALISMA PLANTAGO-AQUATICA* L.**

Овруцкая И.И.

Институт ботаники им. Н.Г.Холодного НАН Украины, ул. Терещенковская 2, г. Киев, 01601, Украина, тел./факс: 38(044)2723236

E-mail: [ovrutska@mail.ru](mailto:ovrutska@mail.ru)

Актуальной проблемой в настоящее время является адаптации растений к изменениям факторов окружающей среды в связи с антропогенным влиянием и глобальным изменением климатических условий. Как известно, доступность воды - критический внешний фактор, который определяет рост и распространение растений. Водный



дефицит, недостаток доступной растениям воды, сопровождается перестройкой их метаболизма, синтеза и распределения ассимилятов. Замедление роста, уменьшение размера клеток, которое вызывает уже небольшой водный дефицит, объясняется нарушением клеточного растяжения за счет уменьшения объема клетки и угнетения растяжения клеточной оболочки. Важным компонентом клеточных оболочек являются полисахариды. Каллоза - апопластный полисахарид, не растворимый в воде, относится к группе структурных углеводов клеточной стенки. Свойство каллозы, которое имеет существенное значение для понимания ее физиологической роли, заключается в том, что каллоза способна увеличивать свой объем в воде в 6 раз. В набухшем состоянии она перестает фильтровать воду вследствие плотного смыкания гидратных оболочек, которые покрывают ее мицеллы. Каллозные отложения, благодаря своей способности к набуханию могут поддерживать и регулировать гидратуру клеток. Одной из функций каллозы является поддержание водного баланса. Целью нашей работы было изучение влияния естественных изменений водного режима на содержание каллозы в листовых пластинках частухи подорожниковой (*Alisma plantago-aquatica* L., сем. Alismataceae), которая принадлежит к воздушно-водным растениям. При росте на суходоле, на расстоянии 3 – 25 метров от реки (в неблагоприятных условиях) растения становятся карликовыми и однолетними, их вегетативные органы отличаются в размерах от многолетних растений, которые растут в воде, в 6 раз. Цитохимические исследования в конфокальном микроскопе показали, что каллоза присутствует в клеточных оболочках верхнего и нижнего эпидермиса, столбчатого и губчатого мезофила, сосудов независимо от условий роста растений. Уровень интенсивности флуоресценции каллозы в клеточных оболочках воздушно-водных растений частухи более высокий по сравнению с аналогичным показателем у суходольных растений. Относительное содержание каллозы в клеточных оболочках верхнего и нижнего эпидермиса, столбчатого и губчатого мезофила, сосудов было достоверно выше у воздушно-водных растений, чем у суходольных.

Предполагается, что каллоза действует как молекулярный фильтр благодаря ее мелкофибриллярной структуре и высокой гигроскопичности, резервирует влагу и адекватно регулирует поступление и выход различных метаболитов.

## РОСТ И МОРФОГЕНЕЗ ПРОРОСТКОВ И ИЗОЛИРОВАННЫХ СЕМЯДОЛЕЙ ОГУРЦОВ ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ В РАСТВОРАХ $\text{CoCl}_2$

Омарова З.А., Арсланбекова Д.А.

Дагестанский государственный университет, ул. М. Гаджиева, 43а, 367001  
Махачкала, тел.: 8(722)685025

E-mail: [z\\_abakarova@mail.ru](mailto:z_abakarova@mail.ru) (Омаровой З.А.)

Для оценки степени токсичности среды загрязнённой тяжелыми металлами (ТМ) и подбора модельных объектов важно изучение изменений в морфогенезе и жизнеспособности растений в целом и отдельных их органов и структур. Большинство исследователей относят  $\text{Co}$  к ТМ 2-го класса токсичности. Объектами наших исследований служили проростки и изолированные семядоли (ИС) 3-х сортов огурцов (*Cucumis sativus*): Пальчики, Феникс и Хабар. Проростки и отделённые от них семядоли на 1-е, 5-е и 10-е сутки после их раскрытия культивировали в нестерильных условиях (чашки Петри) на увлажнённой р-ми  $\text{CoCl}_2$  (0.1, 0.5, 1.0 и 5.0 мг/л) фильтровальной бумаге. Контроль – дистиллированная вода. О действии растворов судили по изменению прироста (длина и ширина), выживаемости и регенерации корней у ИС, морфогенеза 1-го и 2-го настоящего листа у проростков. Если оценивать чувствительность ИС к р-рам  $\text{CoCl}_2$  по выживаемости, то она возрастает в следующем ряду: с.Хабар → с.Феникс → с.Пальчики. В пределах 1-го сорта чувствительность возрастает с увеличением интактного возраста семядолей перед отделением. Рост и морфогенез корней ИС в контроле зависят от сорта и протяжённости интактного состояния. Более высокие темпы прироста характерны 1 дн. ИС, особенно у с. Феникс. При культивировании в 0.1 и 0.5 мг/л р-рах  $\text{CoCl}_2$  прирост, выживаемость и ризогенез ИС огурцов превосходили контрольные значения при сохранении сортовой специфики в целом. В частности, 1 дн. ИС огурцов с. Пальчики быстрее росли в 0.5 мг/л р-ре  $\text{CoCl}_2$ , тогда как 1 дн. с. Хабар и 5 дн. ИС с. Феникс – в 0.1 мг/л. При повышении уровня  $\text{CoCl}_2$  в среде (1.0 и 5.0 мг/л) отмечено замедление прироста ИС огурцов в ширину, а прирост в длину значительно варьировал в зависимости от сорта и сроков изоляции от проростков. Так, по приросту в длину превосходили 1-дн. и 10-дн. ИС с. Пальчики в р-рах  $\text{CoCl}_2$ , а 5 дн. – в контроле. При повышении уровня  $\text{CoCl}_2$  (1.0 и 5.0 мг/л) отмечено подавление ризогенеза у ИС, с некоторыми вариациями по сортам и срокам интактного возраста. В частности, 1 дн. ИС огурцов с. Пальчики, укоренились в р-ре 5 мг/л  $\text{CoCl}_2$  в среднем на 6 – 7 сут. позже контроля. Состояние прироста, ризогенеза и выживаемости в большей степени коррелируют у 1 дн. ИС огурцов, которым характерны более интенсивный прирост и темпы регенерации, по сравнению с 5-дн. и

10-дн. Прирост интактных семядолей при культивировании проростков в р-рах  $\text{CoCl}_2$  мало отличался от контроля, поэтому этот показатель не может быть использован для сравнения устойчивости сортов к  $\text{CoCl}_2$ . Увеличение содержания в среде  $\text{CoCl}_2$  заметнее всего отражалось на морфогенезе 1 и 2 настоящих листьев у проростков огурцов, даже при 100% выживаемости в варианте.

## **АНТИМИКРОБНЫЙ ПЕПТИД Tk-AMP-X2 ИЗ ПШЕНИЦЫ *Triticum kiharae* – ПРЕДСТАВИТЕЛЬ НОВОГО СЕМЕЙСТВА ЗАЩИТНЫХ ПЕПТИДОВ**

Опарин П.Б.\*, Василевский А. А.\*, Беркут А.А.\*, Егоров Ц.А.\*,  
Одинцова Т.И.\*\*\*, Гришин Е.В.\*

\* Учреждение Российской академии наук Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10, тел.: (495)3366540, факс: (495)3307301

\*\* Учреждение Российской академии наук Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, 119991, Москва, ул. Губкина, 3

Антимикробные пептиды (АМП) представляют собой обширную (свыше 2000 представителей) группу соединений, участвующих в защите высших организмов от патогенных прокариот, грибов и некоторых вирусов. Антимикробный пептид Tk-AMP-X2 (28 остатков) из пшеницы *Triticum kiharae* является представителем новой группы (семейства) растительных защитных пептидов, в состав которой наряду с АМП также входят ингибиторы протеолитических ферментов. Для всех представителей данной группы характерно наличие в аминокислотной последовательности двух консервативных мотивов CXXXC, где X – любой остаток. 3D структура этих пептидов представлена двумя  $\alpha$ -спиралями, скрепленными двумя дисульфидными связями. В нашей лаборатории ведется работа по получению рекомбинантных аналогов представителей нового семейства с последующим изучением их свойств. Конечной целью является выяснение взаимосвязи структуры и функции пептидов, а также получение новых соединений с заданными свойствами. В ходе этой работы была создана искусственная система экспрессии гена Tk-AMP-X2 в *Escherichia coli*, выход рекомбинантного пептида составил ~1,5 мг с 1 л бактериальной культуры. По данным масс-спектрометрии, N-концевого секвенирования и сравнения хроматографических подвижностей полученный рекомбинантный пептид эквивалентен природному. В результате тестирования биологической активности было показано, что в микромолярных концентрациях Tk-AMP-X2 подавляет рост ряда фитопатогенных грибов.

## **ИЗУЧЕНИЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИНА И АКТИН-СВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА 56 КД В ЛИСТЬЯХ *Arabidopsis thaliana* Heynh. ПРИ ХОЛОДОВОМ СТРЕССЕ**

Орлов В.П., Соколова М.К., Соколов О.И.

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН;  
пр. Энтузиастов 13, 410015 Саратов, тел.: (8452) 970494

E-mail: [sokolov@ibppm.sgu.ru](mailto:sokolov@ibppm.sgu.ru)

Многие процессы в растительных клетках зависят от состояния актиновой сети. Важную роль для состояния и динамического поведения актинового скелета играют актин-связывающие и актин-ассоциированные белки, одним из которых, по-видимому, является белок 56 кД.

Для изучения локализации и относительного содержания F-актина и белка 56 кД в листьях *Arabidopsis thaliana* при холодовом стрессе и в темноте мы применяли одновременное окрашивание препаратов зафиксированных листьев маркером «Alexa Fluor 546 phalloidin» и непрямое иммуномечение с использованием полученных нами кроличьих поликлональных антител к белку 56 кД с последующим выявлением коммерческими вторичными антителами «антикроличьи IgG козы + Alexa Fluor 594». Относительное количество микрофиламентов актина и белка 56 кД в листьях *Arabidopsis thaliana* Heynh. рассчитывали, принимая контрольные показатели, полученные от растений, выращенных при температуре 22°C при нормальном освещении. У контрольных растений относительное количество полимерного актина и белка 56 кД находятся примерно на одинаковом уровне. При холодовом стрессе количество полимерного актина снижалось на 32%, в то время как количество белка 56 кД составило 106%. В листьях, выросших в темноте, количество белка 56 кД снизилось до 56%.

Таким образом, показано, что к 14-м суткам холодового стресса в листьях *Arabidopsis thaliana* Heynh. относительное количество белка 56 кД, в отличие от актина, не только не снижается, а возрастает, что, по-видимому, обусловлено экспрессией его синтеза. Следует отметить, что в такой постановке экспериментов говорить о колокализации данных белков некорректно. Можно рассуждать только о преимущественных зонах интенсивностей сигналов, принадлежащих определенным областям или зонам органа. То есть о тканевом распределении. Поэтому сравнение адаптационных изменений на клеточном уровне и на уровне отдельного органа и целого растения следует проводить с осторожностью. Дальнейшее изучение динамических изменений и количественных параметров актина и актин-ассоциированного белка 56 кД в целых растениях при

продолжительном действии низких положительных температур дадут возможность более детально изучить процессы, происходящие при адаптации растений к холодовому стрессу.

Показано, что при 14 дневном холодовом стрессе в семядольных листьях растений *Arabidopsis thaliana* Heynh. относительное количество белка 5б кД, в отличие от актина, не только не снижается, а возрастает.

Работа поддержана грантом РФФИ 08-04-01617-а.

## **УЛЬТРАСТРУКТУРА ФЛОЭМЫ ЛИСТЬЕВ КСЕРОГАЛОФИТА *ARTEMISIA LERCHIANA* WEB.**

Орлова Ю.В.\*, Куркова Е.Б.\*, Беэр А.С.\*\*\*, Мясоедов Н.А.\*, Балнокин Ю.В.\*

\* Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая, 35, 127276 Москва, тел.: (495)9779218

\*\* Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, ГСП-1, Ленинские горы, 1, стр. 12, 119991 Москва, тел.: (495)9391827

E-mail: [orl-jul@mail.ru](mailto:orl-jul@mail.ru) (Орловой Ю.В.), [balnokin@mail.ru](mailto:balnokin@mail.ru) (Балнокину Ю.В.)

Устойчивость растений к водному дефициту и высокой температуре основывается на механизмах, поддерживающих в этих условиях движение воды в системе целого растения, а также обеспечивающих водный гомеостаз отдельных клеток. Наличие таких механизмов проявляется в некоторых особенностях анатомического строения органов и ультраструктурной организации их клеток. Целью настоящей работы было электронно-микроскопическое исследование клеток терминальной флоэмы листьев ксерогалофита полыни Лерха (*Artemisia lerchiana* Web.) и выявление ультраструктурных особенностей клеток, связанных с обитанием в условиях аридного климата.

Нами установлено, что во флоэме проводящих пучков листа каждый членик ситовидной трубки снабжен двумя крупными клетками-спутницами, расположенными симметрично по обе стороны от него. К членикам ситовидных трубок и клеткам-спутницам примыкают клетки флоэмной паренхимы. Клетки-спутницы закрытого типа (*transfer cells*): крупные, с апопластным лабиринтом, образованным выростами (протуберанцами) клеточной стенки. В цитоплазме в районе апопластного лабиринта присутствуют многочисленные хлоропласты и митохондрии, а сами клетки-спутницы практически не имеют плазмодесм, соединяющих их с клетками флоэмной паренхимы и клетками обкладки проводящего пучка, хотя несут многочисленные плазмодесмы в области контакта с члеником ситовидной трубки.

Такая структурная организация флоэмы характерна для большинства апопластных растений, т.е. растений, использующих апопласт в качестве промежуточного накопителя ассимилятов перед их загрузкой во флоэму. При этом вода и вещества, содержащиеся в ксилеме, попадают в мезофилл через обкладку проводящего пучка (распределительная обкладка). Подобного рода анатомия и ультраструктура клеток терминальной флоэмы свойственна многим степным растениям. Такая структурная организация флоэмы позволяет загружать ассимиляты в неё без участия плазмодесм, транспорт веществ, по которым чувствителен к водному дефициту и температуре. Полученные результаты согласуются с данными, свидетельствующими об экологической пластичности данного вида и его господствующем положении в степных растительных сообществах.

Работа поддержана грантом РФФИ № 09-04-00-709-а

## **РОЛЬ ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ В МЕХАНИЗМАХ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ АМАРАНТА (*Amaranthus cruentus* L.) К ДЕЙСТВИЮ КАДМИЯ**

Осмоловская Н.Г., Кудряшева З.К., Попова Н.Ф.

Санкт-Петербургский государственный университет, Биолого-почвенный факультет; Университетская наб. 7/9, 199034 Санкт-Петербург, тел.:(812)3289695, факс:(812)3289703

E-mail: [natalia\\_osm@mail.ru](mailto:natalia_osm@mail.ru) (Осмоловской Н.Г.), [nata-ly-a@yandex.ru](mailto:nata-ly-a@yandex.ru) (Поповой Н.Ф)

Устойчивость растений к действию тяжелых металлов во многом определяется их способностью к поддержанию внутриклеточного ТМ гомеостаза, который достигается как через ограничение поступления ТМ в клетку, так и через хелатирование ионов ТМ в цитозоле и их секвестирование в метаболически неактивный компартмент (Титов и др., 2007; Серегин, Кожевникова, 2008). В этой связи все чаще обсуждается роль органических кислот как возможных хелаторов ТМ. Получен ряд доказательств участия малата, цитрата и оксалата в эндогенной и/или экзогенной детоксикации Al, Zn, Cd (Pineros et al., 2008; Meyer et al., 2009). Нами ранее было показано, что растения амаранта, отличающиеся высоким содержанием щавелевой кислоты, формируют в онтогенезе пулы растворимого и нерастворимого оксалата, играющие ведущую роль в процессах ионного гомеостатирования в клетках листа (Осмоловская и др., 2007; Попова, 2009). Для анализа возможного участия пулов оксалата в формировании устойчивости амаранта к ТМ были исследованы ответные реакции 35-дн растений на 7 сут. воздействие

Cd в концентрациях 1-300 мкМ в условиях водной культуры. Установлено, что растения амаранта проявляют стратегию эксклюдера, аккумулируя Cd преимущественно в корнях в концентрации до 2000 и более мкг/г сухой биомассы, тогда как в листьях уровни Cd не превышали 100-190 мкг/г. В диапазоне концентраций 1-10 мкМ отмечена высокая устойчивость растений к действию Cd, о чем свидетельствовали поддержание основных параметров ионного гомеостаза, включая уровни оксалата, и прироста биомассы на уровне контроля. Повышение концентраций Cd от 30 до 300 мкМ сопровождалось снижением содержания преимущественно нерастворимого оксалата в зрелых и далее в ювенильных листьях при одновременном снижении пула растворимого и возрастании пула нерастворимого оксалата в корнях, изменением параметров  $K^+/Ca^{2+}/Mg^{2+}$  гомеостаза и существенным ингибированием роста растений. При экзогенном внесении Na-оксалата (2,5 мМ) на фоне 30 мкМ Cd наблюдалось 1,5-кратное снижение аккумуляции Cd в корнях при сохранении общего пула оксалата в листьях и поддержании темпов роста растений на уровне контроля без Cd. Внесение в среду цитрата способствовало снижению уровня Cd в корнях в 2,5 раза, однако в этом случае отмечалось практически полное расходование пула нерастворимого оксалата в листьях и сильное торможение прироста биомассы. В докладе обсуждаются механизмы участия оксалата в детоксикации Cd и формировании устойчивости к нему амаранта, предположительно связанные как с вовлечением оксалата в эндогенное хелатирование Cd в клетках листа, так и с Cd – индукцией оттока оксалата в корни и его выведением в среду, обуславливающими экзогенное хелатирование и ограничение поступления Cd в растения.

## **САЛИЦИЛОВАЯ КИСЛОТА МОЖЕТ РЕГУЛИРОВАТЬ ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ ПОСРЕДСТВОМ ИЗМЕНЕНИЯ ЗНАЧЕНИЯ ПОТЕНЦИАЛА НА ВНУТРЕННЕЙ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ МЕМБРАНЕ В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК *Arabidopsis thaliana***

Павлова Е.Л., Рихванов Е.Г., Таусон Е.Л., Степанов А.В., Гамбург К.З.,  
Боровский Г.Б., Войников В.К.

Сибирский Институт физиологии и биохимии растений СО РАН; ул. Лермонтова  
132, 664033 Иркутск-33, тел.:(3952)460676, факс:(3952)510754

E-mail: [dzubina@sifibr.irk.ru](mailto:dzubina@sifibr.irk.ru) (Павловой Е.Л.)

Салициловая кислота (СК) – сигнальная молекула фенольной природы, отвечающая условиям фитогормона. На данный момент роль

СК в формировании устойчивости к биотическим стрессовым факторам достаточно хорошо изучена. СК является важным компонентом реакции сверхчувствительности (СВЧ) и системной приобретенной устойчивости у растений. Эндогенная СК (при СВЧ) и экзогенная в высоких концентрациях, может вызывать гибель клеток по механизму программируемой клеточной смерти (ПКС).

Известно, что при инфицировании СК может вызывать активацию целого спектра различных генов, направленных на выживание клетки или, наоборот, на её гибель (как в случае СВЧ). Экзогенная СК у растений вызывает аналогичные эффекты, что и эндогенная. Также в литературе имеются данные об участии СК в защите от абиотических стрессовых факторов, таких как: УФ, озон, повышенные температуры. С другой стороны, СК влияет на состояние митохондрий. Это позволяет предполагать, что СК вызывает некоторые физиологические реакции посредством влияния на функционирование митохондрий.

В данной работе изучено влияние экзогенной СК на экспрессию генов, участвующих в формировании защитных ответов (генов белков теплового шока (БТШ)) и потенциально проапоптозных (генов метакаспаз) в зависимости от значения потенциала внутренней митохондриальной мембраны (mt $\Delta\Psi$ ).

СК несколько снижала mt $\Delta\Psi$  при нормальной температуре инкубации (26°C) и ингибировала его повышение, вызванное мягким тепловым стрессом (37°C). Добавление СК во время мягкого теплового стресса подавляло экспрессию генов БТШ (*HSP17.6* и *HSP101*), которая, как известно, определяется повышением mt $\Delta\Psi$ . Иными словами, в условиях мягкого теплового стресса СК подавляла развитие индуцируемой термотолерантности. Однако в контрольных условиях СК в концентрациях 0,25-1 мМ значительно активировала экспрессию гена метакаспазы *МС3*. Экспрессия данного гена также активировалась при добавлении веществ, вызывающих снижение mt $\Delta\Psi$ . При мягком тепловом стрессе на фоне повышенного mt $\Delta\Psi$  некоторая базовая и СК-индуцированная экспрессия данного гена, наоборот, подавлялась, причем независимо от присутствия БТШ.

Таким образом, в данной работе впервые было показано, что экспрессия гена *МС3* активируется в ответ на экзогенную СК и подавляется при тепловом стрессе.

Полученные результаты позволяют предполагать, что активирующий или ингибирующий эффект СК на экспрессию ряда генов может определяться ее способностью снижать потенциал на внутренней митохондриальной мембране.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ (07-04-01177а, №08-04-01037 и №10-04-00921) и молодежного проекта СО РАН.



## **АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В ТРАНСГЕННЫХ ПО Mn-СОД РАСТЕНИЯХ ТАБАКА ПРИ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОМ СТРЕССЕ**

Павлючкова С.М.

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Беларусь 220072, Минск, ул. Академическая, 27, тел.: (37529)5936849, факс: (37517)2842359

E-mail: [svetlanapavluchkova@yandex.ru](mailto:svetlanapavluchkova@yandex.ru) (Павлючковой С.М.)

Устойчивость растений к воздействию неблагоприятных факторов окружающей среды может быть повышена за счет увеличения экспрессии генов антиоксидантных ферментов, например, фермента супероксиддисмутазы (СОД), участвующего в детоксикации супероксидного анион-радикала. В данной работе мы использовали трансгенные растения табака (*Nicotiana tabacum* L.), трансформированные смысловым геном митохондриальной изоформы СОД (Mn-СОД). Была изучена активность антиоксидантных ферментов (СОД, аскорбатпероксидазы (АПР), глутатионредуктазы (ГР) и каталазы) в трансгенных растениях табака при низкотемпературном стрессе (+4°C, 22 ч). Опыты проводили на 45-дневных проростках табака, выращиваемых в лабораторных условиях при температуре +25±2°C в режиме 14 ч света (освещенность 175 мкмоль квантов·м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>) и 10 ч темноты. Было показано, что в нормальных условиях выращивания вследствие повышенной экспрессии генов, кодирующих Mn-СОД, трансгенные растения обладали большей активностью СОД по сравнению с растениями дикого типа. Увеличение активности СОД у трансформантов сопровождалось возрастанием активности АПР и ГР (на 25% и 30% соответственно). При этом активность каталазы растений, трансформированных Mn-СОД, оставалась на уровне активности фермента в диком типе. Можно предположить, что в растениях табака с повышенным содержанием СОД более интенсивно происходит инактивация супероксидного анион-радикала с образованием пероксида водорода, в детоксикации которого преимущественно участвует АПР. В условиях низкотемпературного стресса наблюдали увеличение общей активности СОД в 1,3 раза по сравнению с исходным уровнем как в трансгенных растениях, так и в контрольных образцах. При действии низкой положительной температуры в трансформантах было также зафиксировано повышение активности АПР и ГР на 60% и 13% по сравнению с трансгенными растениями, не подвергавшимися стрессовому воздействию. В растениях табака дикого типа при стрессе активность АПР увеличилась, однако была ниже, чем у трансгенных растений на 14%, в то время как активность ГР практически не изменялась. Активность каталазы в

трансформантах в результате стрессового воздействия увеличилась на 75% по сравнению с исходным уровнем и превысила аналогичный параметр у растений дикого типа на 62%, что свидетельствует о важной роли каталазы в детоксикации пероксида водорода в трансгенных по Mn-SOD растениях табака при низкотемпературном стрессе. В целом, полученные результаты свидетельствуют о более эффективной работе антиоксидантной системы трансформантов как в нормальных условиях выращивания, так и при действии низкотемпературного стресса.

## **МЕХАНИЗМЫ АДАПТОГЕННОГО ДЕЙСТВИЯ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА РАСТЕНИЯ В УСЛОВИЯХ ЗАСОЛЕНИЯ**

Палладина Т.А., Рыбченко Ж.И.

Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины; ул. Терещенковская, 2, 01601, тел.: (044)2344041

E-mail: [tatiana\\_palladina@ukr.net](mailto:tatiana_palladina@ukr.net)

Глобальные изменения климата усиливают действие на растения негативных экологических факторов, в том числе засоления почвы, которое особенно быстро распространяется на орошаемых землях, снижая продуктивность сельского хозяйства. Возникновение состояния солевого стресса при действии различных факторов является результатом нарушения в них осмотического, а иногда также ионного гомеостаза, сопровождаемая вторичным окислительным стрессом. Засоление является особо сильным и необратимым стрессовым фактором для растений из-за присутствия в солях натрия как главного катиона. На клеточном уровне натрий является токсичным для всех растительных видов, из-за чего невозможно создать солеустойчивые сорта методами классической селекции. Различное отношение животных и растительных организмов к  $\text{Na}^+$  обусловлено тем, что у первых  $\Delta\mu\text{H}^+$  на плазмалемме создается при работе  $\text{Na}^+$ -насоса, представленного  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазой, а у вторых –  $\text{H}^+$ -насоса, представленного  $\text{H}^+$ -АТФазой.  $\text{Na}^+$ , который нарушает метаболические процессы в цитоплазме растительной клетки, выводится из нее наружу и в вакуоль посредством их вторично-активных  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -антипортеров. Солеустойчивость растений стараются повысить путем создания трансгенных форм, несущих гены более сильных  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -антипортеров или их регуляторных белков. Существует также альтернативный нерадикальный способ

с использованием синтетических адаптогенных препаратов. Путем испытания ряда биоактивных препаратов нами были выбраны Метиур и Ивин, синтезированные в ИБОХ Украины. В вегетационных опытах было найдено, что предобработка семян  $10^{-7}$  М усиливала солеустойчивость кукурузы даже в присутствии 0.1М NaCl, причем эффект Метиура был более сильным и сохранялся в течении всей вегетации, особенно при дополнительном опрыскивании при переходе к генеративному развитию. В полевом опыте на солонцеватых почвах применение Метиура повышало выход зерна на 11%. В опытах на проростках, экспонированных на NaCl, найдено, что обработка семян препаратами снижала в тканях уровень перекисного окисления путем активации системы антиоксидантно защиты, а также нормализовала осмотический гомеостаз, усиливая синтез растворимых сахаров и аминокислот. На мембранных препаратах было продемонстрировано способность препаратов, особенно Метиура, поддерживать состав липидов, а также активность  $H^+$ -АТФаз плазмалеммы и тоноплатста, что способствует функционирование в них  $Na^+$ - $H^+$ -антипортеров. Нами проведены исследования зависимости адаптогенного эффекта препаратов от их структуры, в частности показано, что наличие боковой SH в молекуле Метиура определяет его антиоксидантную активность *in vitro*, которая осуществляется анирадикальным путем. Таким образом, использование адаптогенных препаратов, в первую очередь дешевого и нетоксичного Метиура (LD 4000), значительно повышает солеустойчивость растений, что позволяет выращивать разные виды на засоленных почвах.

## **ОБНАРУЖЕНИЕ ФЕРРИТИНА В СОСУДИСТОЙ ПАРЕНХИМЕ Fe-ДЕФИЦИТНЫХ ЛИСТЬЕВ MESEMRYANTHEMUM CRYSTALLINUM L.**

Н.В. Парамонова

Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева Российской академии наук,  
127276, Москва, Ботаническая 35, paranva@mail.ru

Процессы поглощения, транспорта и накопления Fe в растении регулируются таким образом, чтобы не допускать преимущественного накопления восстановленной формы железа, способной катализировать образование токсичных гидроксильных радикалов. Одним из способов детоксикации избытка Fe, является образование в хлоропластах железосодержащего белка — ферритина (Ф). В стрессорных условиях,

вызванных NaCl и путресцином, Ф чаще всего наблюдался в хлоропластах около сосудистой паренхимы [1,2]. Целью данной работы было выяснить, будет ли образовываться Ф в паренхиме вокруг сосудов при стрессе, вызванном отсутствием железа (14 дней.) в питательной среде. До этого растения около месяца произрастали на полной питательной среде. Электронномикроскопически исследовалась 4 пара листьев, которые после появления боковых побегов постепенно отмирают. Как показало исследование, при дефиците Fe в хлоропластах мезофилла отсутствует Ф и появляются первые стресс-индуцируемые повреждения [3]. Вместе с тем в сопровождающих клетках флоэмы (СКФ) хлоропласты содержали многочисленные скопления паракристаллического Ф, находящегося в длинных трубочках, которые изгибаясь образовывали различные фигуры. Благодаря компартиментации Ф в трубочки, Fe становилось менее доступным для быстрого использования. Мембрана, покрывающая Ф, возможно, необходима для сохранения и контролируемого расходования Fe в условиях дефицита. Во всех других случаях, наблюдаемых нами и другими авторами, Ф отмечался непосредственно в матриксе хлоропласта.

Высказывается предположение, что Ф, образованный в (СКФ) в период, произрастания на полной питательной среде, при дефиците Fe, является малодоступным для использования мезофиллом стареющего листа. Несмотря, на испытываемый этими клетками Fe-дефицитный стресс, железо из (СКФ) по ситовидым трубкам движется к листьям молодых развивающихся боковых побегов.

1. Парамонова Н.В., Шевякова Н.И., Кузнецов Вл.В. Ультраструктура хлоропластов и их запасных включений в первичных листьях *Mesembryanthemum crystallinum* L. при воздействии путресцина и NaCl. // Физиол раст. 2004. Т. 51. С. 99-109

2. Парамонова Н.В., Шевякова Н.И., Кузнецов Вл.В. Ультраструктурные особенности ферритина в листьях *Mesembryanthemum crystallinum* при стрессе // Физиология растений. 2007. Т.54. С. 275-289.

3. Н.В.Парамонова. О защитной роли пластоглобул в хлоропластах *Mesembryanthemum crystallinum* L., выращенных при различном статусе железа и засолении. Материалы Всероссийской конф. «Устойчивость организмов к неблагоприятным факторам внешней среды» 24-28 августа 2009 г., Иркутск. 2009, с.358-362

## МИКРОРНК И ГЕНЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТНОЙ СИСТЕМЫ У РАСТЕНИЙ *Thellungiella halophila* ПРИ СТРЕССЕ

Пашковский П.П., Радюкина Н.Л.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая, 35, 127276 Москва, тел.: (499)2318334, факс: (495)9778018

E-mail: [pashkovskiy.pavel@gmail.com](mailto:pashkovskiy.pavel@gmail.com) (Пашковскому П.П.)

При действии на растение неблагоприятных факторов окружающей среды, наблюдается генерация активных форм кислорода (АФК), что, в свою очередь, сопровождается активацией антиоксидантной защитной системы. Одним из ключевых ферментов антиоксидантной системы является супероксиддисмутаза (СОД). Общая активность СОД в растении определяется активностями индивидуальных изоформ и их изоферментов, регуляция которых может осуществляться на разных уровнях экспрессии кодирующих их генов. В настоящее время развивается гипотеза, согласно которой МикроРНК-опосредованная регуляция экспрессии генов имеет существенное значение в реализации онтогенетической программы организма в нормальных условиях и при стрессе. Ключевую роль в этом механизме РНК-интерференции играет особый класс малых молекул РНК, так называемых микроРНК (~21 нуклеотид). В комплексе с функциональными белками они регулируют дифференциальную экспрессию генома на посттранскрипционном уровне с помощью прямой сегментации, либо ингибирования трансляции. МикроРНК выступают в качестве своего рода посредников в процессе деградации мРНК, определяя точки приложения активности РНК-индуцированного комплекса ингибирования (RISC) в отношении мРНК-мишеней. У растений *Arabidopsis thaliana* мишенью для MIR398 является Cu/Zn СОД (*CSD*). При этом установлено, что уровни мРНК гена *CSD1*, но не *CSD2*, негативно коррелировали с уровнями MIR398 при засолении. Растения галофиты – в отличие от гликофитов (*A. thaliana* является типичным представителем гликофитов) имеют высокую конститутивную устойчивость к избыточному засолению. Вопрос о том, вовлекается ли MIR398 в регуляцию экспрессии генов СОД у растений галофитов в настоящее время не исследован. Нами были изучены уровни экспрессии мРНК гена *CSD1* и уровень MIR398 у растений галофитов *Thellungiella halophila* при действии засоления (100 мМ NaCl), света высокой интенсивности и 10 мин UV-B облучения. Полученные нами результаты позволяют заключить, что механизм микроРНК-опосредованной регуляции экспрессии *CSD1* характерен не только для растений гликофитов, но и для растений галофитов; его функционирование не является органоспецифичным, слабо зависит от природы стрессорного воздействия и, при этом, носит дозозависимый

характер. Уровни MIR398 в корнях и листьях имеют противоположную направленность, что может свидетельствовать о способности MIR398 к межорганному транспорту по растению, что указывает на вовлечение MIR398 не только в регуляцию генов СОД, но и в передачу сигнала от одного органа другому. Все это свидетельствует о важной биологической роли MIR398-опосредованной регуляции экспрессии генов антиоксидантных ферментов при стрессе у растений галофитов.

Работа выполнена при поддержке Программы Президиума РАН “Молекулярная и клеточная и биология”.

## **НЕКОТОРЫЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ *Betula platyphylla* Sukacz. В УСЛОВИЯХ ЦЕНТРАЛЬНОЙ И ЮЖНОЙ ЯКУТИИ**

Перк А.А., Петров К.А., Бубякина В.В., Пономарев А.Г., Татарина Т.Д.,  
Максимов Т.Х.

Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН; пр. Ленина 41, 677980  
Якутск, тел.: (4112)335690, факс: (4112)335812

E-mail: [anaponomarev@yandex.ru](mailto:anaponomarev@yandex.ru) (Пономареву А.Г.)

Центральная и Южная Якутия (Алдан), располагаясь на удалении 500 км, значительно различаются по температурным и влажностным характеристикам. Это накладывает существенный отпечаток на особенности роста и развития растений, которые могут быть оценены по ряду физиологических показателей.

В течение 2009-2010 гг. нами проводилось сравнение величин электрического сопротивления побегов (частоты 120 и 1000 Гц) методом проникающих электродов, а также уровня свободных стимуляторов и ингибиторов роста в почках у двух разных (центрально- и южноякутская) популяций березы плосколистной (*Betula platyphylla* Sukacz.).

Динамика электрического сопротивления у берез в Алдане и Центральной Якутии была аналогична – понижение сопротивления в летний период и его повышение по мере затухания терминального и радиального роста побегов. Вероятно, повышение электрического сопротивления обусловлено снижением подвижности электролитов в тканях за счет уменьшения их содержания, а также связывания с органическими макромолекулами. Характер хода электрического сопротивления от зимы к лету имел более пологий спуск, чем его подъем от лета к зиме. Абсолютные значения импеданса зависели от места взятия проб

и электрической частоты измерения. Центральная якутские березы зимой имели большой импеданс (125 и 104 кОм) в отличие от растений Ю. Якутии (106 и 90 кОм) на частотах 120 и 1000 Гц соответственно. В летний период у первых происходило более резкое падение электрического сопротивления тканей (50 и 39 кОм) по сравнению со вторыми (57 и 48 кОм) на тех же частотах. Это коррелирует с изменением температур воздуха, которые зимой в Центральной Якутии в среднем были ниже на 10 °С, а летом – выше на 1.5 °С, чем в Южной Якутии.

Биотестирование функциональной активности водных элюатов из почек берез после хроматографического разделения показало наличие основных стимулирующих зон летом на участках Rf 0.1-0.6, а ингибирующих – Rf 0.7-1.0. Некоторые зоны в разные месяцы изменяли свой эффект на противоположный. Во всех случаях зоны Rf 0.8-0.9 обладали ярко выраженными ингибирующими свойствами, что можно связать с абсцизовой кислотой или/и с другими пока неизвестными ингибиторами. Так, эффект зоны Rf 0.9 наиболее сильно проявляется в конце лета и в начале осени (сентябрь), предваряя подготовку растений к зимнему покою. Элюаты этой зоны из алданских образцов в сентябре показали 100%-ное подавление прироста биотеста в отличие от центральной якутских растений (40%-ный прирост от контроля). Это может быть обусловлено необходимостью более сильного подавления ростовых процессов осенью у растений Южной Якутии, где наблюдаются большие колебания погодных факторов (возможность возвратных потеплений на фоне достаточного влагообеспечения). У берез Центральной Якутии все зоны элюирования обладали более равномерным распределением ингибирующего эффекта.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №09-04-98556-р\_восток\_a.

## **РАННИЙ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНЫЙ СТРЕСС И РОЛЬ КАРОТИНОИДОВ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ ПИТАТЕЛЬНОЙ ЦЕННОСТИ КРИОКОРМА В ЯКУТИИ**

Перк А.А., Чепалов В.А., Иванов Б.И., Петров К.А.

Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН; пр. Ленина 41, 677980 Якутск, тел.:(4112)335690, факс:(4112)335812

E-mail: [kap\\_75@bk.ru](mailto:kap_75@bk.ru) (Петрову К.А.)

Выявление особенностей накопления питательных и биологически активных веществ осенне-вегетирующими травянистыми растениями

Центральной Якутии – необходимое условие для разработки рациональных приемов заготовки дополнительного зеленого криокорма высокого качества. В задачу исследования входило изучение содержания каротиноидов в листьях овса сорта Якутский при 3 сроках сева (17.06, 07.07 и 30.07.2009) и 4 сроках уборки (28.08, 17.09, 30.09 и 12.10.2009), когда растения подвергались низкотемпературному стрессу разной интенсивности.

Зафиксированы две отличающихся динамики накопления суммы каротиноидов в зависимости от сроков сева. Для 1-го и 2-го сроков сева при приближении осени содержание каротиноидов резко падало, а затем несколько возрастало. При этом максимум падения приходился на 3 укос, составляя только 35-49% от суммы каротиноидов 1-го укоса (контроль), равного  $1566.8 \pm 28.0$  мкг/г сухой массы. Затем содержание их несколько повышалось – до 43-63% для последней предзимней уборки. Для 3 срока сева не отмечалось таких резких изменений, они были в пределах 95-104% сумм каротиноидов 1-го контрольной уборки. Динамика изменения ксантофиллов – кислородсодержащих каротиноидов, которые составляли в листьях овса 67-74%, соответствовало общему ходу изменения суммы каротиноидов, но вклад отдельных групп пигментов при этом был различен. Их динамика по срокам сева характеризовалась следующим образом. Для 1 срока сева наблюдалось постепенное падение относительного содержания неоксантина от 1-го к 4-му укосу с 14 до 8% от суммы каротиноидов. Содержание лютеина, наоборот, постоянно росло с 39 до 51 %. Наиболее резкие изменения произошли с виолаксантином – с 1-го по 3-й укос его доля существенно упала с 16 до 7%, а к 4-му укосу вновь возросла – до 13%. Уровень  $\beta$ -каротина при этом изменялся относительно мало и оставался в пределах 28-33%. Для 2-го и 3-го сроков сева, в отличие от 1-го, наблюдались слабые изменения относительного содержания неоксантина, его уровень составлял 13-15%. Для этих же сроков выявилось резкое падение доли виолаксантина с 15-20 до 10-11%. Уровень  $\beta$ -каротина также снижался к последнему сроку уборки, но это падение не было столь резким – с 31 до 27 % и с 26 до 33% для 2-го и 3-го сроков сева соответственно. Одновременно, как и для 1-го срока сева, постепенно росла относительная доля лютеина – в среднем с 40 до 50% от летних к осенним укосам. Для последнего предзимнего укоса суммы каротиноидов 1-го и 2-го сроков сева составляют лишь 45 и 62 % от 3-го наиболее позднего срока сева.

Таким образом, проведение сева овса на зеленый криокорм в конце июля (3-й срок) в условиях Центральной Якутии, по сравнению с ранними сроками, позволяет получить урожай с наиболее высоким и относительно



стабильным при всех сроках уборки валовым содержанием каротиноидов (1450-1580 мкг/г сухой массы, в том числе 370-490 мкг β-каротина). Этот срок является оптимальным с точки зрения провитаминовой ценности при заготовке дополнительных кормов.

## **РАСПРОСТРАНЕНИЕ *Clavibacter michiganensis ssp. sepedonicus* ПО РАСТЕНИЮ КАРТОФЕЛЯ *in vitro***

Перфильева А. И., Рымарева Е. В.

Сибирский Институт физиологии и биохимии растений СО РАН; ул. Лермонтова, 132, 664033 Иркутск-33, тел.: (3952)425009, факс: (3952)510754

E-mail: [alla.light@mail.ru](mailto:alla.light@mail.ru), [elenar@sifibr.irk.ru](mailto:elenar@sifibr.irk.ru)

Для выяснения клеточных механизмов устойчивости растения – хозяина к возбудителю кольцевой гнили картофеля (*Clavibacter michiganensis ssp. sepedonicus*) исследовали динамику распространения патогена по растениям картофеля *in vitro*. Использовали пробирочные растения картофеля сортов «Удача» (ранний) и «Луговской» (среднезрелый), устойчивых к широкому кругу фитопатогенов. Длина растений от корневой шейки до макушки 10-12 см. Растения выращивали в жидкой питательной среде (Murashige and Skoog) 3 недели. В среду роста вносили 1мл 3-х суточной бактериальной суспензии патогена (штамм Ас-1405, получен из Всероссийской коллекции микроорганизмов, г. Пущино). Титр  $1 \cdot 10^8$  кл/мл. Зараженные и контрольные растения выращивали в факторостатных асептических условиях (26°C) 6 суток. Динамику распространения контролировали посуточно путем микробиологического посева гомогената, полученного из разных зон растения (корни, стебли и зона апикальной меристемы – длиной до 1,5 см). Исследования показали, что на первые сутки бактерии проникали в корни и не обнаруживались в середине и верхушке растений картофеля сорта «Удача», у «Луговского» же бактерии обнаруживаются в корневой и средней зоне. На вторые сутки бактерии обнаруживаются уже в средней части и верхушке растений сорта «Удача». В растениях сорта «Луговской» бактерии также присутствовали в верхушке растения, но их было больше чем в корнях, и меньше чем в стебле. КОЕ, выделенных из стебля было в 10 раз больше, чем из корней, что подтверждало активную миграцию бактерий в сосудистую систему. На третьи сутки отмечалось усиление колонизации растений сорта «Удача». Наибольшее КОЕ отмечалось в

стеблях и листьях. У растений «Луговского» бактерии наблюдались в виде одиночных колоний в верхушке растения. В 3 раза увеличивалось содержание бактерий в средней, и в 30 раз в корневой зонах растения по отношению ко вторым суткам. Снова происходил отток бактерий в зону корней. Колонии, высеянные из разных органов, отличались по морфологии. Колонии бактерий из средней зоны растений более крупные по размеру, образовывали сообщества и имели желтоватую пигментацию. Бактерии из корневой зоны образовывали мелкие одиночные бледно-молочного цвета колонии. На четвертые сутки увеличивалось число бактерий в верхушке в 2 раза по сравнению с третьими сутками у растений обоих сортов, причем содержание бактерий в стебле и корне не менялось по сравнению с третьими сутками. На шестые сутки коинкубации отмечалось уменьшение количества бактерий во всех органах растений. Зафиксированная волнообразная колонизация зон растений патогеном может быть связана с включением механизмов фитоиммунитета растения-хозяина.

## **КРИОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ РАСТЕНИЙ И ФОРМИРОВАНИЕ ИХ ПИТАТЕЛЬНОЙ ЦЕННОСТИ В УСЛОВИЯХ ЯКУТИИ**

Петров К.А., Перк А.А.

Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН; пр. Ленина 41, 677980 Якутск, тел.:(4112)335690, факс:(4112)335812

E-mail: [kap\\_75@bk.ru](mailto:kap_75@bk.ru) (Петрову К.А.)

Из-за климатических условий продуктивность естественной травянистой растительности Якутии находится на низком уровне (0.4-2 т/га). Компенсировать малую урожайность кормов для диких и домашних животных помогает способность местных растений накапливать осенью значительные запасы питательных веществ. Она во многом обусловлена активным синтезом первичных и вторичных каротиноидов с выраженными антиоксидантными свойствами, защищающими фотосистему от излишков энергии возбуждения в условиях понижающихся температур. Это позволяет растениям Якутии не только своевременно завершить процесс закаливания, но и несколько продлить саму вегетацию (Петров и др., 2007, 2010). Ранее наступление морозов способствует быстрой «консервации» белков, углеводов, жиров и других веществ. Так, в первую фазу закаливания

(начало и середина сентября) содержание сахаров у дикорастущих кормовых трав Северо-Восточной Якутии достигает 10-14% в пересчете на сухую массу. Одновременно возрастает уровень полиненасыщенных жирных кислот (линолевой, линоленовой и арахидоновой). Местные травоядные животные, потребляя осенневегетирующие травы (отава, хвощовые растения и др.), также депонируют в мясе и сале повышенный процент таких жирных кислот, что увеличивает их адаптацию к условиям суровой зимы. Например, давно замечено, что зимнезеленый хвощ пестрый (чыыбага) на горно-таежных пастбищах Северо-Востока Якутии является одним из наиболее ценных наживочных кормовых растений в осенне-зимний период. Он в условиях тебеневки обладает удивительным качеством восстанавливать силу и упитанность истощенных лошадей за очень короткий промежуток времени (30-45 дней). Мясо таких животных особенно ценится по вкусовым и лечебным свойствам, а сало приобретает желто-оранжевый или розовый оттенок за счет окраски каротиноидами (Петров и др. 2007). Таким образом, повышенное содержание каротиноидов и ненасыщенных жирных кислот в северных растениях во многом способствует поддержанию нормальной жизнедеятельности травоядных животных в условиях одного из самых холодных регионов планеты.

Учитывая специфику накопления питательных веществ травами в условиях криолитозоны, следует шире внедрять нетрадиционные технологии заготовки кормов. Они могут основываться на более поздних сроках сева (июль) кормовых культур (овес, рапс, горох), хорошо переносящих воздействие низких температур, и естественном консервировании холодом (криокорм). При расчетной средней урожайности зеленой массы овса на криокорм 15.0 т/га можно получить до 2 кг/га каротина, 1.4 т/га перевариваемого протеина, почти 4 тыс. кормовых единиц/га. По содержанию каротина зеленый криокорм превосходит сено более чем в 20 раз, а по перевариваемому протеину – в 4.2 раза (Иванов, Румянцев, Петров, 2009).

С учетом возможной механизации производства криокорма, данная технология может быть применима повсюду, где наблюдается краткий период межсезонья с быстрым падением температур, обуславливающим консервирующий эффект естественного холода.

## **ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ ЛИПИДОВ И АДАПТАЦИЯ РАСТЕНИЙ К ДИТЕЛЬНОМУ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОМУ СТРЕССУ ЯКУТИИ**

Петров К.А., Перк А.А., Чепалов В.А.

Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН; пр. Ленина 41, 677980 Якутск, тел.:(4112)335690, факс:(4112)335812

E-mail: *kap\_75@bk.ru* (Петрову К.А.)

Одним из приспособлений, обеспечивающих функционирование живых организмов при неблагоприятных воздействиях окружающей среды, в том числе холодových, является изменение степени ненасыщенности жирнокислотных остатков липидов мембран. Снижение температуры существенно уменьшает текучесть мембран, что приводит к повышению уровня транскриптов и экспрессии генов десатураз, ответственных за образование двойных связей в жирных кислотах, входящих в состав липидов. В результате, в определенных пределах, удастся стабилизировать ионные трансмембранные градиенты и восстановить нормальное функционирование ферментов.

Как известно, в конце вегетационного периода с укорочением длины дня и снижением температуры воздуха у растений процесс адаптации начинается с вхождения в состояние глубокого физиологического покоя, а затем прохождения двух последовательных фаз закаливания, что позволяет им пережить неблагоприятный зимний период. Закаливание при низких положительных температурах (10-0° С) связано, прежде всего, с приостановкой роста в фазе растяжения, уменьшением содержания воды, фитогормонов-стимуляторов и возрастанием уровня природных ингибиторов роста, сахаров, растворимых белков и липидов. Судя по нашим данным, при закаливании особенно заметно увеличивается содержание каротиноидов (Петров и др., 2010). Они наиболее эффективны как тушители избыточной энергии триплетных хлорофиллов и синглетного кислорода в реакциях переноса энергии, в которых хлорофилл, кислород и сам каротиноид возвращаются в основное состояние.

Анализ литературных источников показывает, что сведения об изменении жирнокислотного состава липидов в зависимости от физиологического состояния многолетних растений Якутии практически отсутствуют. Поэтому сравнительное исследование динамики жирнокислотного состава липидов разных морфо-, фено- и физиотипических групп растений, произрастающих в экстремальных условиях криолитозоны исключительно актуально. Для определения

жирных кислот использовали хроматограф Agilent Technology 6890 с масс-спектрометрическим детектором 5973, колонку Innosil длиной 30 м и внутренним диаметром 0.25 мм. Условия хроматографирования: программное термостатирование от 50 до 240° С со скоростью 5° С/мин., температура испарителя – 250° С. Для выявления компонентов привлекали библиотеку масс-спектров Nistos. В результате установлено, что листья (хвоя) и почки лиственных и вечнозеленых хвойных древесно-кустарниковых, а также травянистых растений Якутии характеризуются достаточно сложным жирнокислотным составом. Были идентифицированы жирные кислоты, принадлежащие к двум группам: 1) насыщенные: лауриновая, миристиновая, пальмитиновая, маргариновая, стеариновая, арахидиновая, бегеновая, лигноцеридиновая и пентакозаноидиновая; 2) ненасыщенные: линолеиновая, линоленовая, олеиновая, пальмитолинолеиновая, пальмитолиноленовая, пальмитоолеиновая, арахидоидиновая (5,8,11,14-эйкозатетраеновая), арахидоидиновая (8,11,14,17-эйкозатетраеновая) и 7-гексадеценовая.

## **ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ ДРЕВЕСНО-КУСТАРНИКОВЫХ РАСТЕНИЙ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЯКУТИИ**

Петров К.А.\*, Чепалов В.А.\*, Перк А.А.\*, Охлопкива Ж.М.\*\*

\* Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН; пр. Ленина, 41, 677980 Якутск, тел.:(4112)335690, факс:(4112)335812

\*\* Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова; ул. Белинского, 58, 677000 Якутск

E-mail: [kap\\_75@bk.ru](mailto:kap_75@bk.ru) (Петрову К.А.)

Роль жирных кислот липидов в адаптации растений к действию низкотемпературного стресса является предметом многочисленных исследований.

В настоящем сообщении приводятся данные по изучению качественного состава и количественного содержания жирных кислот липидов в почках березы плосколистной (*Betula platyphylla* Sukacz.) и ольховника кустарникового (*Duschekia fruticosa* (Rupr.) Pouzar), а также в хвое сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) и ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.) во время вегетации в условиях Центральной Якутии. Климат Центральной Якутии характеризуется продолжительной холодной, малоснежной зимой (средняя январская температура – 43.2° С)

и коротким засушливым летом (средняя температура в июле 18.7° С) при наличии неглубоко оттаивающих многолетнемерзлых почвогрунтов. Широкое распространение представителей семейств березовых (*Betulaceae*) и сосновых (*Pinaceae*) в районах криолитозоны связано с особенностями приспособления их фотосинтетического аппарата к гипотермии за счет возможной модификации липидов мембран. В Центральной Якутии морфо- и органогенез листового аппарата начинается с заложения почек более чем за 10 месяцев до их распускания (конец июня). Пробы почек и хвои растений отбирали в первую половину дня во время пика их вегетации (середина июля), фиксировали в жидком азоте с последующей лиофилизацией. В растительном материале жирные кислот по методике, кратко описанной нами в предыдущем сообщении (Петров, Перк, Чепалов, 2010). В результате хроматографического анализа получены следующие показатели качественного состава и содержания жирных кислот липидов у изученных летневегетирующих древесно-кустарниковых растений (мг/г сухой массы). Почки березы: насыщенные – миристиновая ( $0.25 \pm 0.06$ ), пальмитиновая ( $3.55 \pm 0.63$ ), стеариновая ( $0.49 \pm 0.06$ ), арахидиновая ( $0.76 \pm 0.13$ ), бегеновая ( $1.57 \pm 0.52$ ), лигноцерина ( $0.60 \pm 0.22$ ), гексакозановая ( $0.14 \pm 0.03$ ); ненасыщенные – линолевая ( $3.65 \pm 0.36$ ), линоленовая ( $2.96 \pm 0.26$ ), олеиновая ( $0.68 \pm 0.08$ ), пальмитоолеиновая ( $0.20 \pm 0.04$ ). Почки ольховника: насыщенные – пальмитиновая ( $2.70 \pm 0.27$ ), стеариновая ( $0.26 \pm 0.09$ ), арахидиновая ( $0.21 \pm 0.07$ ), бегеновая ( $0.32 \pm 0.01$ ), лигноцерина ( $0.22 \pm 0.01$ ); ненасыщенные – линолевая ( $2.75 \pm 0.44$ ), линоленовая ( $1.65 \pm 0.30$ ), олеиновая ( $0.19 \pm 0.02$ ), пальмитоолеиновая ( $0.85 \pm 0.08$ ), 7-гексадеценная ( $1.11 \pm 0.10$ ). Хвоя сосны: насыщенные – лауриновая ( $2.73 \pm 0.19$ ), миристиновая ( $1.00 \pm 0.07$ ), пальмитиновая ( $1.69 \pm 0.14$ ), стеариновая ( $0.23 \pm 0.10$ ); ненасыщенные – линолевая ( $1.74 \pm 0.29$ ), линоленовая ( $1.94 \pm 0.40$ ), олеиновая ( $0.70 \pm 0.18$ ), 5,8,11,14-арахидиновая ( $0.35 \pm 0.04$ ), 5,11,14,17-арахидиновая ( $0.14 \pm 0.03$ ). Хвоя ели: насыщенные – лауриновая ( $0.66 \pm 0.07$ ), миристиновая ( $1.00 \pm 0.08$ ), пальмитиновая ( $1.38 \pm 0.26$ ), стеариновая ( $0.12 \pm 0.03$ ); ненасыщенные – линолевая ( $1.62 \pm 0.31$ ), линоленовая ( $1.40 \pm 0.32$ ), олеиновая ( $0.80 \pm 0.21$ ), 5,8,11,14-арахидиновая ( $0.28 \pm 0.06$ ), 5,11,14,17-арахидиновая ( $0.10 \pm 0.03$ ).

## **РОЛЬ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В АДАПТАЦИИ ХВОЩЕЙ (*Equisetum variegatum* Schleich. ex Web., *E. scirpoides* Michx.) К ДЛИТЕЛЬНОМУ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОМУ СТРЕССУ**

Петров К.А.\*, Чепалов В.А.\*, Перк А.А.\*, Охлопкова Ж.М.\*\*

\* Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН; пр. Ленина 41, 677980 Якутск, тел.:(4112)335690, факс:(4112)335812

\*\* Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова; ул. Белинского, 58, 677000 Якутск

E-mail: [kap\\_75@bk.ru](mailto:kap_75@bk.ru) (Петрову К.А.)

Общеизвестно, что особенно важная роль в процессе адаптации растений к низкотемпературному стрессу отводится повышению концентрации ненасыщенных жирных кислот мембранных липидов. Как показывают многолетние геоботанические исследования, хвощевые луга Яно-Индигирского флористического района Северо-Восточной Якутии ежегодно подвергаются длительному заливанию паводковыми водами. В этих условиях растения не успевают пройти полный цикл роста и развития, поэтому они активно вегетируют в летне-осенний период. Осенневегетирующие растения, прошедшие две фазы холодого закаливания, уходят под снег в зеленом состоянии (естественный зеленый криокорм). У хвощей пестрого (*Equisetum variegatum* Schleich. ex Web.) и камышкового (*E. scirpoides* Michx.) на долю зеленых частей приходится не ниже 100%. Данные виды произрастают в особо суровом климате Северо-Восточной Якутии – на Полюсе холода (окрестности г. Верхоянска, среднее течение р.Туоустах, 67° с.ш., 137° в.д). Растения собирали в середине октября 2009 г. из-под снега, когда среднесуточные температуры достигли постоянных отрицательных значений. Целью опыта является сравнительное изучение качественного состава и содержания (мг/г сухой массы) жирных кислот в тканях побегов у летневегетирующих и зимнезеленых хвощей пестрого и камышкового. Получены следующие результаты. Зимне-зеленый хвощ пестрый: насыщенная – пальмитиновая (17.3) и ненасыщенные – олеиновая (3.3), линолевая (20.6), линоленовая (30.1). Хвощ камышковый: насыщенная – пальмитиновая (22.5) и ненасыщенные – олеиновая (6.0), линолевая (26.8), линоленовая (47.4). Содержание насыщенной, ненасыщенных жирных кислот и их сумма у хвоща пестрого составляет 17.3, 54.0 и 71.3 мг/г сухой массы соответственно, а у хвоща камышкового – 22.8, 80.2 и 103.0 мг/г сухой массы соответственно. Липиды зимнезеленых хвощей содержат много ненасыщенных жирных кислот (75.7 и 77.3% от общего

количества жирных кислот соответственно). Следует отметить, что по содержанию ненасыщенных жирных кислот зимнезеленые хвощи сильно отличаются от летневегетирующих растений. У *E. variegatum* это превышение над уровнем летних растений составило 9,4 раз, а у *E. scirpoides* – было еще больше – до 10.9 раз. Насыщенные жирные кислоты изменялись не столь значительно, их возрастание составило только 3.3 и 4.7 раз для данных видов хвощей. В целом, содержание всех жирных кислот увеличилось в 6.5 и 8.5 раз для *Equisetum variegatum* и *E. scirpoides* соответственно. Такое резкое возрастание обусловлено предполагаемой важной ролью данных соединений в климатической адаптации к условиям экстремально низких температур региона Полюса холода. В связи с этим, следует также указать на высокую ценность хвощовых растений в качестве нажировочных кормов для аборигенных популяций животных, что неоднократно отмечалось как местным населением, так и многими исследователями Севера.

## **ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ТРАВЯНИСТЫХ РАСТЕНИЙ, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В ЦЕНТРАЛЬНОЙ И СЕВЕРО-ВОСТОЧНОЙ ЯКУТИИ**

Петров К.А.\*, Чепалов В.А.\*, Перк А.А.\*, Охлопкова Ж.М.\*\*, Иванов Б.И.\*, Иванов Р.В.\*\*\*

\* Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН; пр. Ленина 41, 677980 Якутск, тел.:(4112)335690, факс:(4112)335812

\*\* Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова; ул. Белинского, 58, 677000 Якутск

\*\*\* Якутский научно-исследовательский институт сельского хозяйства СО РАСХН; ул. Бестужева-Марлинского, 23/1, 677007 Якутск, тел.:(4112)21-45-74

E-mail: [kap\\_75@bk.ru](mailto:kap_75@bk.ru) (Петрову К.А.)

Проведен скрининг травянистых растений, имеющих кормовое значение для травоядных животных на качественный состав и содержание в листьях и побегах у летневегетирующих одно- (овес посевной – *Avena sativa* L., ячмень обыкновенный – *Hordeum vulgare* L.) и многолетних (пырей ползучий – *Elytrigia repens* (L.) Desv. ex Nevski, хвощи пестрый и камышковый – (*Equisetum variegatum* Schleich. ex Web., *E. scirpoides* Michx.) видов. Овес посевной и ячмень яровой сорта Тамми выращивали на опытном участке, расположенном на средней пойме р. Лена. Посев произвели в конце мая – начале июня 2010 г. Пырей ползучий, хвощи пестрый и камышковый произрастают в Центральной и Северо-Восточной Якутии. Пробы листьев злаков и побегов хвощей отбирали в середине июля. В лиофильно высушенном материале травянистых растений



обнаружены следующие жирные кислоты (мг/г сухой массы). Листья овса: насыщенные – миристиновая ( $0.19 \pm 0.01$ ), пальмитиновая ( $4.32 \pm 0.35$ ), стеариновая ( $0.38 \pm 0.15$ ) и ненасыщенные – линолевая ( $2.38 \pm 0.06$ ), линоленовая ( $12.43 \pm 0.77$ ), олеиновая ( $0.31 \pm 0.004$ ), пальмитоолеиновая ( $0.71 \pm 0.16$ ). Листья ячменя: насыщенные – миристиновая ( $0.27 \pm 0.02$ ), пальмитиновая ( $3.57 \pm 0.34$ ), стеариновая ( $0.33 \pm 0.05$ ) и ненасыщенные – линолевая ( $1.40 \pm 0.09$ ), линоленовая ( $12.74 \pm 1.21$ ), олеиновая ( $1.48 \pm 0.14$ ), пальмитоолеиновая ( $0.82 \pm 0.12$ ). Листья пырея ползучего: насыщенные – лауриновая ( $0.14 \pm 0.02$ ), миристиновая ( $0.35 \pm 0.02$ ), пальмитиновая ( $2.60 \pm 0.28$ ), стеариновая ( $0.20 \pm 0.05$ ) и ненасыщенные – линолевая ( $1.26 \pm 0.08$ ), линоленовая ( $6.62 \pm 0.17$ ), олеиновая ( $0.25 \pm 0.03$ ), пальмитоолеиновая ( $0.36 \pm 0.04$ ), 7-гексадеценная ( $0.28 \pm 0.04$ ). Побеги хвоща пестрого: насыщенные – миристиновая ( $0.15 \pm 0.05$ ), пальмитиновая ( $4.60 \pm 0.42$ ), стеариновая ( $0.41 \pm 0.14$ ) и ненасыщенные – линолевая ( $1.30 \pm 0.41$ ), линоленовая ( $2.62 \pm 0.76$ ), олеиновая ( $1.31 \pm 0.37$ ), пальмитолинолевая ( $0.10 \pm 0.06$ ), пальмитолиноленовая ( $0.57 \pm 0.22$ ). Побеги хвоща камышкового: насыщенные – миристиновая ( $0.11 \pm 0.02$ ), пальмитиновая ( $4.43 \pm 0.67$ ), стеариновая ( $0.31 \pm 0.11$ ) и ненасыщенные – линолевая ( $1.40 \pm 0.29$ ), линоленовая ( $4.33 \pm 0.47$ ), олеиновая ( $0.41 \pm 0.06$ ), пальмитолиноленовая ( $0.62 \pm 0.12$ ), пальмитоолеиновая ( $0.17 \pm 0.01$ ). Содержание насыщенных, ненасыщенных жирных кислот и их сумма у овса посевного составляют: 4.89, 15.51, 20.40, у ячменя ярового – 4.17, 16.43, 20.60, у пырея ползучего – 3.29, 8.77, 12.06, у хвоща пестрого – 5.20, 5.75, 10.95 и у хвоща камышкового – 4.85, 7.34 и 12.19 мг/г сухой массы соответственно. Липиды этих растений содержат много ненасыщенных жирных кислот (53-80% общего количества жирных кислот).

## **ТРАНЗИТОРНОСТЬ АКТИВАЦИИ НАДФН-ОКСИДАЗЫ ПЛАЗМАЛЕММЫ ПРИ СНИЖЕНИИ ТЕМПЕРАТУРЫ ВЫРАЩИВАНИЯ ПРОРОСТКОВ КУКУРУЗЫ И КЛЕТОК СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЫ АРАБИДОПСИСА**

Пиотровский М.С., Шевырева Т.А., Жесткова И.М., Трофимова М.С.

Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева РАН; ул. Ботаническая, 35, 127276 Москва, тел.: (495)977-80-22, факс: (495)977-80-18

E-mail: [troms@ippras.ru](mailto:troms@ippras.ru)

В последнее время интенсифицируются исследования, в которых изучается сигнальная роль активных форм кислорода (АФК) при воздействии неблагоприятных условий среды. Тем не менее, такая точка зрения на роль АФК еще не является общепринятой. Считается,

что компартментом, где происходит рецепция и кодирование сигнала, является апопласт. Одним из апопластных белков-генераторов АФК является НАДФН-оксидаза плазмалеммы, активность которой ингибируется малыми концентрациями дифенилен иодониама (ДФИ). Этот фермент продуцирует  $O_2^-$ , который, вступая в реакцию дисмутации, превращается в перекись водорода. Целью работы было определение кинетики изменений активности НАДФН-оксидазы плазмалеммы клеток суспензионной культуры мезофилла *Arabidopsis thaliana* и этиолированных проростков кукурузы *Zea mays* L. при смене температуры выращивания с 25 до 6°C. Изменения количества перекиси водорода определяли по интенсивности флуоресценции родамина 123, образующегося в результате окисления дигидрородамина 123, внесенного в суспензию клеток, подвергшихся холодовому стрессу. Кинетику ферментативной активности НАДФН-оксидазы плазмалеммы корней и побегов проростков кукурузы оценивали спектрофотометрически по скорости образования формазана в результате восстановления ХТТ супероксидом. Было показано, что изменения интенсивности флуоресценции родамина 123 при инкубации клеток *A. thaliana* на холоду носили транзиторный характер: флуоресценция увеличивалась в течение первого часа воздействия, а затем постепенно снижалась. Присутствие в среде 10 мкМ ДФИ снижало уровень пероксида водорода и снимало эффект транзиторности. Это свидетельствует об участии НАДФН-оксидазы в генерации перекиси водорода в клетках при смене температурного режима. Кроме того, образование родамина 123 ингибировалось при внесении в среду 5 мМ аскорбата, указывая тем самым на то, что в этих условиях флуоресценция отражает изменения содержания перекиси водорода в апопласте. Помимо этого, была оценена НАДФН-оксидазная активность плазмалеммы, изолированной из проростков кукурузы, подвергнутых действию низких положительных температур в течение 2 и 24 ч. Выявлено увеличение в ДФИ-зависимой ферментативной активности при кратковременном холодовом воздействии (2 ч), в то время как, при длительном (24 ч) – не наблюдалось изменений в кинетике продукции супероксида по сравнению с контролем. Полученные результаты свидетельствуют о кратковременной активации НАДФН-оксидазы плазмалеммы при воздействии низких положительных температур, что является аргументом в пользу сигнальной роли генерируемых ее АФК.

## ОСОБЕННОСТИ АККУМУЛЯЦИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И ПРОДУКТОВ ПОЛ В ЛИСТЯХ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ ПРИ СТРЕССОВОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

Писковая О.Н., Гришко В.Н.

Криворожский ботанический сад Национальной академии наук Украины;  
ул. Маршака 50, 50089, г. Кривой Рог,

E-mail: [piskovajaolga@rambler.ru](mailto:piskovajaolga@rambler.ru) (Писковой О.Н.)

Стрессовое воздействие соединений тяжелых металлов на растения в первую очередь проявляется в нарушении физиолого-биохимических процессов. Поэтому были исследованы особенности аккумуляции Zn, Pb, Cd и Ni в листьях древесных растений в зоне действия ЗАО «Криворожский суриковый завод», а также особенности процессов пероксидации липидов, вызванных действием указанных поллютантов. Объектами исследования были *Populus bolleana* Lauche и *Acer negundo* L. второй возрастной группы, произрастающие на промплощадке и в дендрарии Криворожского ботанического сада НАН Украины (условный контроль). Для анализа отбирались листья юго-западной экспозиции со середины кроны в фазы полного обособления листа (I фаза) и завершения роста листа (II фаза). Анализ результатов свидетельствует о видоспецифичности процесса аккумуляции загрязнителей. Так, уровень Zn в ассимиляционных органах *P. bolleana*, растущего на промплощадке, как в I, так и во II фазу развития листа увеличивался более, чем в 9 раз по отношению к контролю. Менее активно растения накапливали Cd, концентрация которого в листьях в I фазу возрастала лишь в 6 раз и снижалась во II. Противоположная тенденция накопления была характерна для Pb, содержание которого в I фазу развития листа возрастало лишь в 3,3 раза, тогда как во II – почти в 8 раз. Минимальными темпами *P. bolleana* аккумулировал Ni. В фотосинтезирующих органах *A. negundo* как в I, так и во II фазу развития листа накопление Zn, Pb, Cd и Ni происходит менее интенсивно, чем у *P. bolleana*. Тогда как содержание Pb и Ni – в обе фазы развития листа увеличивалась лишь в 2,6 раза. Важным показателем оценки интенсивности стрессового воздействия на живые организмы при действии тяжелых металлов считаются продукты перекисного окисления липидов, среди которых наиболее информативным является уровень ТБК-активных соединений. Выполненные исследования показали, что количество последних в листьях *P. bolleana*, растущего на промплощадке, оставалось одинаковым на протяжении всего периода исследования, хотя и возрастало в 1,8 раза по отношению к контролю. Наряду с этим, концентрация ТБК-активных

продуктов в листьях *A. negundo*, не смотря на менее интенсивную аккумуляцию тяжелых металлов, чем у *P. bolleana*, возрастала в 2,6 и 2,5 раза в I и II фазу соответственно. Установленный факт, по нашему мнению, может свидетельствовать о том, что *A. negundo* является более чувствительным к стрессовому воздействию по сравнению с *P. bolleana*. Подводя итоги, необходимо отметить, что на протяжении всего периода исследований *P. bolleana* аккумулировала Zn, Ni, Pb и Cd в большем количестве, нежели *A. negundo*. Но в отличие от последнего, в его листьях наблюдалось менее значительное развитие процессов пероксидации.

Работа выполнена в рамках проекта № 36-10 «Транслокация тяжелых металлов и фтора в системе «почва-растение» и повышение устойчивости растений при действии абиотических факторов» целевой комплексной междисциплинарной программы научных исследований НАН Украины.

## **РОЛЬ ПРОЛИНОВОЙ АМИНОПЕПТИДАЗЫ *PerP* В БИОГЕНЕЗЕ БЕЛКОВ ФОТОАВТОТРОФНЫХ ОРГАНИЗМОВ**

Пожидаева Е.С.\*, Ефремова Л.П.\*, Соколенко-Ниблинг А.В.\*\*

\* Учреждение Российской академии наук Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая 35, 127276 Москва, тел.: (499)2318394, факс: (495)9778018

\*\* Биотехнологическая компания «АнтиПрот», 82152, Германия, Мартинсрид, Клопфершпиц 19а

E-mail: [alenapoj@mail.ru](mailto:alenapoj@mail.ru) (Пожидаевой Е.С.), [Anna.Sokolenko@antiprot.com](mailto:Anna.Sokolenko@antiprot.com)

Многие белки подвергаются протеолизу за счёт действия пептидаз, особенно во время стрессовых воздействий. Группа пролиновых аминокислот осуществляет избирательный протеолиз белков, гидролизуя на N-конце белка пептидные связи, образованные пролином. Известны пролиновые металлопептидазы, активность которых зависит от ионов двухвалентных металлов, и пролиновые пептидазы серинового типа, каталитический центр которых включает триаду Ser-Asp-His.

У фотоавтотрофных организмах пролиновые аминокислоты до сих пор не изучены. Геном цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803 кодирует 25 аминокислотных пептидаз разного типа, среди которых одна, предположительно, является пролиновой аминокислотной пептидазой (*PerP*). Нами был инактивирован ген *perP*. Мутант был способен к фотоавтотрофному росту, однако рос медленнее, чем дикий тип. Физиолого-биохимический анализ мутанта

показал сниженное содержание фикобилипротеинов и хлорофилла по сравнению с диким типом, что связано с наблюдаемыми у него нарушениями в синтезе фикобилипротеинов и хлорофилл-содержащих белков. Более детальное изучение белка PerP позволит выяснить его роль в биогенезе белков фотосинтетического аппарата цианобактерий.

Поиск гомологичных белков показал, что в растении *Arabidopsis thaliana* количество возможных пролиновых аминопептидаз возрастает до двух, которые кодируются ядерными генами At1g09300 и At4g29490, причём локализация этих белков различна. Для изучения функции данных пептидаз в растениях был использован подход «обратной» генетики. Получены и проанализированы гетерозиготные линии *A. thaliana*, содержащие T-ДНК инсерцию в генах At1g09300 и At4g29490. Гомозиготные трансгенные растения At1g09300 имеют летальный фенотип. Этот результат свидетельствует о важной роли белка в жизнеспособности растений. В настоящее время ведётся подбор условий, при которых станет возможным получить линию с инактивированным геном At1g09300. Анализ трансгенной линии At4g29490 показал замедленное развитие корневой системы у мутантов, чем у дикого типа. Длина корня проростков трансгенов была в два раза короче. Интересно, что при переносе растений в почву эти различия исчезли. Наблюдаемые у трансгенных проростков нарушения в развитии корневой системы при их выращивании на чашках Петри, могут быть связаны с локальной концентрацией  $O_2/CO_2$ , что требует детального анализа.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 09-04-00410.

## **ВЛИЯНИЕ СОЛЕВОГО СТРЕССА НА АКТИВНОСТЬ ФОСФОЛИПАЗЫ Д КЛЕТОК ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ТАБАКА ЭКСПРЕСИРУЮЩИХ АНТИПОРТЕР *SAX1***

Покотило И.В., Кретинин С.В., Кравец В.С.

Институт биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины, Мурманская 1, Киев 02094, Украина, тел.: +380445732705 факс: +380445732552

E-mail: [kravets@bpci.kiev.ua](mailto:kravets@bpci.kiev.ua)

Понимание механизмов, при участии которых растения воспринимают стимулы окружающей среды и осуществляют трансдукцию регуляторных сигналов клеточного метаболизма для активации специфических

адаптационных реакций, является фундаментальной проблемой биологии. Сигнальные каскады реакций в клетках растений инициируются путем активации фосфолипазных ферментов способных расщеплять фосфолипиды мембран с образованием сигнальных соединений. Для активации растительным изоформам фосфолипаз D необходимо присутствие ионов  $Ca^{2+}$ , но как именно  $Ca^{2+}$  влияет на активность фосфолипазы D на сегодняшний день не ясно. В исследованиях использовались растения гибрида табака KY160 экспрессирующие антипортер ионов кальция *sax1* арабидопсиса. Активность фосфолипазы D в тканях регистрировалась путем определения фосфатидилбутанола *in vivo*. На предварительно меченые фосфором  $^{33}P$  ткани растений действовали раствором маннитола или соли NaCl на протяжении 5-30 минут. Фосфолипиды экстрагировались и разделялись методом тонкослойной хроматографии в системе этилацетат : изооктан : муравьиная кислота : вода (13 : 2 : 3 : 10).

Наши результаты указывают на то, что умеренный осмотический стресс а также солевой стресс вызывает значительное накопление меченного фосфатидилбутанола в тканях табака на ранних этапах воздействия. Нами также было показано, что трансгенные растения табака экспрессирующие *sax1* значительно хуже адаптировались к условиям действия умеренного солевого стресса в сравнении с не модифицированными растениями табака. Полученные результаты свидетельствуют о том, что для трансдукции сигналов индуцированных действием осмотического стресса и инициированных активацией фосфолипазы D необходимо участие ионов кальция. Роль фосфолипазы D и ионов кальция в процессах регуляции метаболизма растений при условиях действия осмотического стресса будет рассматриваться в дальнейшем.

## **АКТИВАЦИЯ ЗАЩИТНЫХ РЕАКЦИЙ ПОД ВЛИЯНИЕМ БИОАКТИВАТОРА ФИТОВИТАЛА В ФОРМИРОВАНИИ БОЛЕЗНЕУСТОЙЧИВОСТИ ЯЧМЕНЯ**

Полякова Н.В., Шуканов В.П., Манжелесова Н.Е., Корытько Л.А.,  
Полянская С.Н., Гончарук В.М.

ГНУ «Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси»,  
Беларусь, г. Минск; тел. +375 17 284 05 43

E-mail: [patphysio@mail.ru](mailto:patphysio@mail.ru)

Изучение особенностей действия фитовиталя и его смесей с янтарной и салициловой кислотами на болезнеустойчивость ячменя проводили путем

выяснения характера протекания защитных физиолого-биохимических реакций в полевых условиях. Действие биоактиваторов на этот процесс показало, что фитовиталы вызывали в растении перестройки липидного слоя мембран, изменяли выход водорастворимых веществ, активность перекисного окисления липидов мембран, содержание фотосинтетических пигментов. Воздействие фитовиталов на растения ячменя вызывало изменение интенсивности перекисного окисления липидов. Наиболее активным был чистый фитовитал, в присутствии которого активность перекисного окисления липидов возрастала на стадии трубкования выше контрольного уровня на 72%. Воздействие фитовитала с салициловой и янтарной кислотами вызывало незначительное снижение концентрации ТБК-продуктов. О состоянии мембран растений ячменя судили и по характеру выделения из растительных клеток водорастворимых веществ. Колебания выхода электролитов указывали на частичную потерю мембранами способности удерживать метаболиты, находящиеся в клетках или на избыточное накопление их в результате усиления деятельности фотосинтетического аппарата. В ходе вегетации активность процесса секреции водорастворимых веществ менялась. Значительное увеличение их выхода, отмеченное во всех вариантах в фазе колошения, совпало с массовым развитием и распространением грибных инфекций в посевах ячменя. Уровень содержания хлорофилла (a+b) под влиянием всех исследуемых веществ на первых двух фазах онтогенеза ячменя (кущения и трубкования) был выше контрольного уровня на 10 – 60%. В фазы колошения и цветения содержание пигментов при незначительном снижении оставалось близким к контролю. Обработка растений фитовиталом с салициловой кислотой на этой стадии снизила содержание хлорофилла на 15%. Вероятно, снижение фотосинтетической активности связано с оттоком ассимилятов от вегетирующих органов на формирование генеративных органов и вовлечением их в метаболические процессы клетки. Таким образом, экзогенное воздействие на вегетирующие растения разных форм биорациональных активаторов вызывает спектр ответных защитных реакций, направляющих внутриклеточный метаболизм на увеличение устойчивости к болезням, распространяющихся в посевах ячменя. Влияние биорациональных соединений направлено на активацию основных защитных метаболических реакций растительного организма, а, следовательно, и укрепление иммунитета растений. Применение фитовитала, как биологического агента, является перспективным приемом, позволяющим снижать химическую нагрузку на почву, как среду обитания, и растение с одновременным увеличением болезнеустойчивости и продуктивности культуры за счет активации защитных метаболических процессов.

## **СЕЗОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ДЕГИДРИНОВ БЕРЕЗЫ (*Betula platyphylla* Sukacz.) В КРИОЛИТОЗОНЕ**

Пономарев А.Г., Бубякина В.В., Татаринова Т.Д., Перк А.А., Максимов Т.Х.

Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН; пр. Ленина 41, 677980 Якутск, тел.:(4112)335690, факс:(4112)335812

E-mail: [anaponomarev@yandex.ru](mailto:anaponomarev@yandex.ru) (Пономареву А.Г.)

Изучали сезонную динамику и полиморфизм дегидринов березы плосколистной (*Betula platyphylla* Sukacz.) в условиях криолитозоны Центральной Якутии, одного из наиболее суровых регионов планеты. Дегидрины представляют собой гидрофильные полипептиды, выполняющие защитную функцию при клеточной дегидратации в условиях стресса. Они претендуют на роль одной из основных групп белков, ответственных за формирование и поддержание морозоустойчивости растений.

Дегидрины выявляли с помощью электрофореза в 12.5%-ном ПААГ с ДДС-Na суммарных белков из побегов индивидуальных образцов берез (Ya1-Ya13) и иммуноблоттинга с антителами на дегидрины (*Agrisera*).

Мажорные дегидрины группировались в двух областях. Каждая из берез обладала индивидуальной характеристикой по количеству и соотношению этих белков. Суммарно в пределах первой области с молекулярными массами (м.м.) 59-73 кДа было обнаружено 5 дегидринов (59, 64, 66, 69 и 73 кДа). Например, у берез Ya3 и Ya4 выявлялись в данной области только два дегидрина с м.м. 66 и 69 кДа, а у образца Ya7 – три дегидрина с м.м. 59, 64 и 66 кДа. В целом, в более чем 60% случаев у всех исследованных берез найдены дегидрины с м.м. 66 и 69 кДа, в менее 20% – дегидрины с м.м. 59 и 73 кДа. Во второй области 16-24 кДа были обнаружены 7 дегидринов с м.м. 16.2, 16.9, 17.6, 18.3, 20.1, 20.9 и 23.4 кДа. У Ya3 найдены три дегидрина (16.9, 18.3 и 20.9 кДа). У Ya4 имеются дегидрины с м.м. 16.9, 17.6 и 18.3 кДа. У Ya7 появляется 16.2 кДа-дегидрин, который не найден у других берез, а также имеются дегидрины с м.м. 16.9, 17.6 и 20.9 кДа. Таким образом, у всех изученных экземпляров определялся 16.9 кДа-дегидрин. У более 80% исследованных берез обнаруживался 17.6 кДа-дегидрин. Другие низкомолекулярные дегидрины встречаются реже.

Дегидрины в области м.м. 59-73 кДа определялись круглогодично с весьма заметным уменьшением количества в летний период, но не исчезали полностью. В противоположность им дегидрины в области м.м. 16-24 кДа четко просматривались только в период с сентября по апрель в условиях глубокого и вынужденного покоя деревьев. В мае по мере нарастания температуры наблюдалось постепенное уменьшение содержания



низкомолекулярных дегидринов, которые полностью исчезали в июне и вновь появлялись только в августе. Тогда же наиболее резко возросло количество дегидрина с м.м. 16.9 кДа. Наблюдается прямая связь между появлением дегидринов и уменьшением длины дня, а также параллельным падением температуры воздуха. В сентябре в период пожелтения листьев деревьев и листопада полностью формируется необходимый пул дегидринов, отвечающий за морозоустойчивость берез. Вероятно, полиморфизм деревьев по молекулярным массам и соотношениям дегидринов существенно не затрагивает криорезистентность растений.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №09-04-98556-р\_восток\_a.

## **ВЛИЯНИЕ ТРОФИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ ВОДОРОСЛЕЙ *Chlamydomonas reinhardtii***

Пузанский Р.К., Высоцкий В.И., Чекунова Е.М., Шишова М.Ф.

Санкт-Петербургский Государственный Университет, Биолого-почвенный факультет; 190000 Санкт-Петербург, университетская наб., 7/9, тел.: (812)3289695, факс: 3284432

E-mail: [puzansky@yandex.ru](mailto:puzansky@yandex.ru) (Пузанскому Р. К.), [mshishova@mail.ru](mailto:mshishova@mail.ru)

Ключевую роль в адаптации простейших к окружающим условиям среды является способность перестраивать метаболизм при изменении трофических условий среды для поддержания скорости размножения. В наших исследованиях оценивали влияние ацетата и освещения на рост и развитие культур клеток культур *Chlamydomonas reinhardtii* дикого типа сс124, мутанта по гену светонезависимой протохлорофиллид оксидоредуктазы у-7 и ревертанта R2Chl.

Было показано, что рост культур исследованных штаммов сс124 и у-7 зависит как от условий культивирования в ходе эксперимента, так и от условий, в которых штамм развивался до начала эксперимента. Штаммы сс124, у-7 и R2Chl постоянно культивируемые на питательной среде TAP (содержащей ацетат) при постоянном освещении, либо пересаженные из темноты, росли с более высокой скоростью по сравнению с ростом таковых на среде TM (без ацетата). Штаммы *Chlamydomonas reinhardtii* дикого типа сохраняли способность к росту в темноте, усиливающейся в случае преадаптации к ацетату. Сходная тенденция была выявлена и для мутантного штамма у-7.

Следующий этап работы заключался в анализе интенсивности дыхания и фотосинтеза, а также содержание РУБИСКО и фотосинтетических пигментов (хлорофиллов и каротиноидов) в ходе развития культур *Chlamydomonas reinhardtii*. В целом этап деления характеризовался интенсивным дыханием, но ослаблением процесса фотосинтеза и синтетических процессов. С прекращением процесса деления роль фотосинтетических процессов заметно усиливается. Указанные тенденции прослеживались и у штаммов с нарушением синтеза хлорофилла b. Наряду с этим у них наблюдалось более интенсивное накопление хлорофилла a и каротиноидов, что может выполнять компенсаторную функцию при поддержании ассимиляционных процессов.

## **ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТАБОЛОМА КЛЕТОК *Chlamydomonas reinhardtii*, РАСТУЩИХ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ТРОФИЧЕСКИ УСЛОВИЯХ**

Пузанский Р. К., Шаварда А. Л., Шишова М. Ф.

Санкт-Петербургский Государственный Университет, Биолого-почвенный факультет; 190000 Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9, тел.: (812)3289695, факс: 3284432

E-mail: [puzansky@yandex.ru](mailto:puzansky@yandex.ru) (Пузанскому Р. К.), [mshishova@mail.ru](mailto:mshishova@mail.ru)

Известно, что рост и развитие водорослей находится под контролем целого ряда внешних факторов. Их изменение отражается на интенсивности и направлении биохимических процессов, что выражается в динамике качественного и количественного состава метаболитов в клетках водорослей. В ходе исследования анализировали пул метаболитов клеток культур *Chlamydomonas reinhardtii* дикого типа cc124, мутанта по гену светонезависимой протохлорофиллид оксидоредуктазы *y-7* и мутанта по гену N субъединицы магний-хелатазы *brs*. Метаболиты экстрагировали горячим метанолом, далее экстракты выпаривали, растворяли в пиридине, метилировали BSTFA и анализировали на газовом хроматографе Agilent 5860 с масспектрометром 5975bc. В ходе исследования идентифицированы 50 метаболитов, включая сахара, аминокислоты, жирные кислоты, азотосодержащие соединения и другие. Проведенный анализ показал разницу в спектре метаболитов в зависимости от штамма, а также от условий культивирования. У клеток *Chlamydomonas reinhardtii* дикого

типа наблюдалось накопление рибозы и маннозы на среде, содержащей ацетат натрия, и, культивируемых при постоянном освещении. Обратная тенденция была выявлена для таких углеводов как глюкоза, фруктоза и сахароза, а также для глицеро-3-фосфата и мочевины. Количество пальмитиновой кислоты в клетках дикого типа было выше в клетках культур растущих автотрофно, тогда как увеличение содержания стеариновой кислоты регистрировалось при миксотрофном типе питания водоросли. Нарушения в синтезе хлорофилла приводили к снижению содержания полисахаридов, глицеро-3-фосфата и мочевины, но не влияла на накопление моносахаров и жирных кислот. В целом получены данные об изменении метаболизма клеток *Chlamydomonas reinhardtii* в зависимости от типа углеводного питания (авто- и миксотрофия) и при недостатке хлорофилла.

## **ФТОРИД НАТРИЯ ПОДАВЛЯЕТ РАЗВИТИЕ ИНДУЦИРОВАННОЙ ТЕРМОТОЛЕРАНТНОСТИ У КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК АРАБИДОПСИСА**

Пуляевская М.А., Гамбург К.З., Русалева Т.М., Варакина Н.Н., Степанов А.В., Рихванов Е.Г.

Сибирский Институт физиологии и биохимии растений СО РАН; ул. Лермонтова 132, 664033 Иркутск-33, тел.:(3952)460676, факс:(3952)510754

E-mail: [marjera@mail.ru](mailto:marjera@mail.ru) (Пуляевской М.А.)

Фтор является одним из основных компонентов атмосферных выбросов предприятий алюминиевой промышленности. Растительность, подверженная влиянию фторсодержащих выбросов, характеризуется снижением темпов роста, урожайности, морфоструктурными изменениями ассимилирующей фитомассы. На клеточном уровне фтор может изменять структуру мембран, соотношение химических элементов и синтез органических молекул. Кроме того, известно, что фтор индуцирует развитие апоптоза в клетках человека. Основное токсическое действие фторидов на растения проявляется в ингибировании фотосинтеза, гликолиза и дыхания.

Митохондрии, помимо энергетических функций, играют сигнальную роль в запуске защитных механизмов в ответ на различные стрессовые факторы, в том числе тепловой шок. Нарушение функционального состояния митохондрий может приводить к снижению адаптационных возможностей клетки. Мягкий тепловой стресс 37°C вызывал

гиперполяризацию внутренней митохондриальной мембраны, что сопровождалось индукцией синтеза белков теплового шока (Hsp101 и Hsp17,6) и повышением термотолерантности к последующему более жёсткому тепловому воздействию 50°C. Присутствие NaF во время мягкого теплового стресса предотвращало гиперполяризацию внутренней митохондриальной мембраны, подавляло синтез Hsp101 и Hsp17,6, а также развитие устойчивости к последующему тепловому шоку.

Таким образом, повышение потенциала на внутренней митохондриальной мембране коррелирует с индукцией синтеза БТШ и развитием индуцированной термотолерантности, а нарушение фторидом натрия функций митохондрий подавляет эти процессы. Полученные результаты позволяют предполагать, что митохондрии играют важную роль в развитии адаптации к стрессовому воздействию, а отрицательное действие NaF на растения, заключается не только в его прямом токсичном эффекте на рост и жизнеспособность, но и в его способности подавлять защитную реакцию растений на изменение условий среды.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ (07-04-01177а, №08-04-01037 и №10-04-00921) и молодежного проекта СО РАН.

## **КОНСТИТУТИВНАЯ ЭКСПРЕССИЯ *hsp101* СПОСОБСТВУЕТ ПОВЫШЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК АРАБИДОПСИСА К ДЕЙСТВИЮ ФТОРИДА НАТРИЯ**

Пуляевская М.А., Степанов А.В., Рихванов Е.Г.

Сибирский Институт физиологии и биохимии растений СО РАН; ул. Лермонтова 132, 664033 Иркутск-33, тел.:(3952)460676, факс:(3952)510754

E-mail: [marjera@mail.ru](mailto:marjera@mail.ru) (Пуляевской М.А.)

Фторид натрия является одним из наиболее распространенных техногенных выбросов, негативно влияющих на рост, жизнеспособность и продуктивность растений. Так же фтор может подавлять адаптационные механизмы растений к изменяющимся условиям среды. Адсорбция фтора растениями и устойчивость к его действию высоко индивидуальны. Ранее показаны межвидовые и значительные внутривидовые различия в чувствительности к фтору сибирских видов листовенниц. Однако о механизмах внутриклеточной детоксикации фтора до сих пор мало что известно.

Белок теплового шока Hsp101 предохраняет клетки растений не только от летального действия высоких температур, но и от окислительного стресса, действия патогенов и повышенных температур. Трансгенные линии табака с конститутивной экспрессией Hsp101 показали повышенную способность расти в присутствии фторида калия.

В данной работе было исследовано влияние Hsp101 на жизнеспособность культуры клеток арабидопсиса при обработке фторидом натрия. Для этого использовались трансгенные линии *Arabidopsis thaliana* расы Nössern. Линия *vector*, содержала пустую плазмиду. В линии *sense* Hsp101 конститутивно синтезировался. Линия *antisense* содержала антисмысловую последовательность, блокирующую синтез Hsp101. Определение жизнеспособности клеток спустя 24 ч после начала обработки 20 мМ NaF как калориметрическим методом (восстановление ТТХ), так и с помощью флуоресцентной микроскопии (двойное окрашивание FDA и PJ) показало, что линия *sense* оказалась гораздо устойчивее к действию фторида натрия. Несмотря на то, что жизнеспособность клеток значительно снижалась (порядка 50%), однако не подавлялась полностью. Линии *antisense* и *vector* практически полностью (80-90%) погибали в течение 24 ч. Следовательно, постоянное присутствие Hsp101 способствует повышению устойчивости клеток к действию фторида натрия, так же как и к другим, ранее исследованным, стрессовым факторам.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ (07-04-01177а, №08-04-01037 и №10-04-00921) и молодежного проекта СО РАН.

## **ПОВЫШЕНИЕ АДАПТИВНОСТИ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ К СТРЕССОВОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ ГЕРБИЦИДОВ В УСЛОВИЯХ ЗАСУХИ**

Пусенкова Л.И.\* , Максимов И.В. \*\*, Абизгильдина Р.Р.\*\* , Умаров И.А.\*

\* ГНУ Башкирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства РАСХН; ул. Р.Зорге, 19, 450059 Уфа, тел./факс: (347)2230708

\*\* Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН; Проспект Октября, 71, 450054 Уфа, тел./факс: (347)2230708

E-mail: [bagri@ufanet.ru](mailto:bagri@ufanet.ru) (Пусенковой Л.И.)

Конкуренция между сорняками и культурными растениями в отношении света, воды и питательных веществ - основная причина недобора урожая корнеплодов сахарной свеклы. Несмотря на эффективность химических

способов уничтожения сорняков, недобор продукции от фитотоксичности гербицидов ежегодно составляет 15-20%. Поэтому одновременно с проблемой биологической эффективности препаратов необходимо разрабатывать меры и средства, которые защищают культурные растения от нежелательных последствий их применения. Снизить фитотоксичность гербицидов, повысить их биологическую активность на сорную растительность и экономическую безопасность можно за счет обработок посевов сахарной свеклы биопрепаратами и стимуляторами роста, которые повышают потенциальную урожайность культуры, устойчивость растений к неблагоприятным факторам среды, болезням и токсинам.

Индикаторами, которые отражают физиологический статус растения, являются ферменты про-/антиоксидантной системы (пероксидаза) и гидролитического обмена (амилаза, пектиназа и т.д.). Изменение уровня их содержания до и после обработки препаратами позволяет оценить, насколько растение подверглось стрессу при обработке, и способно ли оно сохранить устойчивость при атаке патогенами. Применение биопрепаратов на основе антагонистических бактерий (бацилл и псевдомонад) снижает также прессинг патогенов в период вегетации и позволяет сохранить урожай.

Цель работы – подбор экологически безопасных биорегуляторов, благотворно отражающихся на фитосанитарном состоянии посевов сахарной свеклы в условиях гербицидного стресса. Полевые опыты по изучению биопрепаратов проводили в условиях Предуральской степной зоны Республики Башкортостан на посевах сахарной свеклы в соответствии с «Методическими указаниями по государственным испытаниям фунгицидов, антибиотиков и протравителей семян сельскохозяйственных культур». Обработки биопрепаратами проведены двукратно в баковых смесях с гербицидами.

Показано, что биопрепарат фитоспорин оказывал пролонгированное действие на содержание пероксидазы при обработке растений сахарной свеклы, тем самым увеличивая стрессоустойчивость растений сахарной свеклы. Проведены эксперименты по измерению интенсивности ответных гидролитических реакций в растениях сахарной свеклы на обработку различными биопрепаратами. Выявлено, что при обработке биопрепаратами содержание гидролитических ферментов снижается.

Работа финансировалась из средств Академии наук Республики Башкортостан, грантом РФФИ-Поволжье 10-04-97025.

## ИЗМЕНЕНИЕ ПОТОКА ЭЛЕКТРОНОВ НА ДОНОРНОЙ И АКЦЕПТОРНОЙ СТОРОНАХ ФОТОСИСТЕМЫ 1 ПРИ ТЕПЛОВОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

Пшибытко Н.Л., Кабашникова Л.Ф.\* , Стржалка К.\*\*

\* ГНУ "Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси",  
ул. Академическая 27, 220072 Минск, Беларусь, тел. (375 17)2842359,  
факс: (375 17)2842359

\*\* Факультет биохимии, биофизики и биотехнологии, Ягелонский университет,  
ул. Гроностоева 7, 30-387 Краков, Польша

E-mail: [pshybytko@rambler.ru](mailto:pshybytko@rambler.ru)

Ранее было показано, что при тепловом воздействии подавление электронного транспорта происходит в основном на участке подвижных переносчиков пластохиноновой природы. Причем показано, что изменяется как уровень восстановленности пластохинонов (PQ), так и размеры фотоактивного и нефотоактивного пулов пластохинонов. Было установлено, что замедление скорости восстановления PQ частично обусловлено изменением скорости их диффундирования в липидном бислое тилакоидных мембран. Поэтому было выдвинуто предположение, что замедление электронного транспорта может быть обусловлено и изменением скорости диффундирования других подвижных переносчиков тилакоидных мембран. В этой связи необходимо было рассмотреть поток электронов на акцепторной и донорной сторонах ФС1. Анализ светоиндуцированных изменений  $A_{830}$  показал, что ТШ ускоряет процесс накопления  $P_{700}^+$ . Это обусловлено снижением оттока электронов на ферредоксин – НАДФ<sup>+</sup> – оксидоредуктазу и далее на ферменты цикла Кальвина. Представление темновой релаксации  $A_{830}$  в миллисекундном диапазоне в полулогарифмических координатах выявило, что тепловое воздействие достоверно снижает степень восстановления  $P_{700}$  за счет электронов, переносимых от ФС2, только в старых листьях ячменя. В старых же листьях наблюдается активизация альтернативного потока электронов от стромальных восстановителей. Во всех изученных листьях ячменя наблюдалось подавление ферредоксин-зависимого пути восстановления  $P_{700}^+$ . В молодых листьях данный компонент вообще исчезал после ТШ. Т.о., можно заключить, что тепловое воздействие подавляло ферредоксин-зависимые пути переноса электронов, причем как линейный, так и нелинейный. По-видимому, ТШ инактивировал ферредоксин – НАДФ<sup>+</sup> – оксидоредуктазу. С другой стороны, возможно, изменялось непосредственно редокс-состояние ферредоксина, что и замедляло поток электронов  $P_{700}^+$  как

по линейному, так и по циклическому пути. В этой связи было изучено изменение редокс-состояния  $P_{700}$  в присутствии искусственного окислителя ферредоксина –ДФИФ совместно с ДТТ. Инfiltrация ДТТ снижала долю ферредоксин-зависимого потока восстановления  $P_{700}$  и активировала альтернативный поток от стромальных восстановителей. Инfiltrация совместно ДТТ и DPIР усиливала ферредоксин-зависимый поток электронов и повышала его до контрольного уровня. Т.о., повышение уровня окисленности ферредоксина восстанавливало термоиндуцированное подавление электронного транспорта на акцепторной стороне ФС1.

## **ГОМЕОСТАЗ ПРОЛИНА И ПОЛИАМИНОВ В РАСТЕНИЯХ ШАЛФЕЯ В УСЛОВИЯХ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА**

Радюкина Н.Л.<sup>1</sup>, Шашукова А.В.<sup>1</sup>, Мапелли С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева РАН; ул. Ботаническая, 35, 127727 Москва, тел.: (499)2318359, факс: (495)9778018

<sup>2</sup> Институт биологии и сельскохозяйственной биотехнологии, Милан, Италия

E-mail: [natrad@yandex.ru](mailto:natrad@yandex.ru) (Радюкиной Н.Л.)

В условиях окислительного стресса (ОС) в растениях функционируют различные метаболические пути, позволяющие синтезировать множество низкомолекулярных соединений с антиоксидантными свойствами. Усиление одного из метаболических путей может приводить к замедлению других, чтобы сохранялся необходимый для жизнедеятельности энергетический и субстратный пул в клетке. В настоящее время многие исследователи полагают, что в растительных клетках поддерживается тесная корреляция между уровнем наиболее распространенных антиоксидантов - пролина и полиаминами путресцинового ряда (ПА). В данной работе была поставлена задача обнаружить корреляцию между изменениями во внутриклеточном содержании пролина, Пут, Спд и Спм в условиях действия параквата, модулятора супероксидного стресса, обработки индивидуальными ПА и совместного действия ПА и параквата на растения шалфея (*Salvia officinalis* L.). Листья 6 недельных растений шалфея обрабатывали 1мл раствора, содержащего 0,1 мкМ параквата в 0,05% Твин-80, как было описано ранее [Шашукова, и др., 2008], растворами индивидуальных ПА в концентрации 0,5 мМ. Проведенные исследования позволили



проследить изменения во внутриклеточном содержании и ПА и пролина в одной и той же растительной системе на фоне ОС, в нормальных условиях и при совместном действии ОС и индивидуальных ПА. Полученные данные однозначно показали, что экзогенные ПА изменяли внутриклеточное содержание пролина в стрессорных условиях, а спермин даже в нормальных условиях. Причем изменения во внутриклеточном содержании пролина были различны в корнях и в листьях и зависели от используемого для обработки индивидуального ПА. Более того, добавление спермина ингибировало биосинтез его предшественников – путресцина и спермидина и вызывало повышение активности супероксиддисмутазы в 2-3 раза и в корнях, и в листьях. В листьях совместная обработка ПА + паракват при перенесении на свет вызывала повышение как содержания пролина, так и индивидуальных ПА. В целом, содержание пролина при совместном действии было выше, чем в опытах только с паракватом. Таким образом, паракват не ингибировал поступление экзогенных ПА через ПА-транспортеры, а, возможно, наоборот, поступление параквата в присутствии ПА было ниже.

Проводимые исследования поддержаны грантами РФФИ 10-04-00799-а, 10-04-90417-Укр\_а, Программа Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология»

## **СИНТЕЗ НОВЫХ БЕЛКОВ КАРТОФЕЛЯ *IN VITRO* ПРИ ДЕЙСТВИИ ВИТАМИНА Е В ПРОЦЕССЕ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ**

Рожнова Н.А., Геращенко Г.А., Одинцова Т.И. \*

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, пр. Октября, 71, 450054 Уфа, тел.: (347)2356088, факс: (347)2356100

\* Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, тел.: (499)1356213, факс: (499)1351289

E-mail: [rozhnova@mail.rb.ru](mailto:rozhnova@mail.rb.ru) (Рожновой Н.А.), [odintsova2005@rambler.ru](mailto:odintsova2005@rambler.ru)

Достаточно давно витамин Е запатентован как регулятор роста и развития растений, но возможность этого антиоксидантного соединения индуцировать устойчивость к вирусным патогенам изучена слабо. В связи с этим представлялось важным изучить изменения белковых спектров у растений картофеля при формировании антивирусной устойчивости под действием витамина Е в процессе развития вирусных инфекций.

Безвирусные пробирочные растения картофеля (*Solanum tuberosum* L., сорт Невский), обработанные витамином Е, инокулированные фитовирусами, использовали в качестве модельного объекта для изучения механизмов защитного действия нового иммуностимулятора и оценки его эффективности в индукции устойчивости к вирусным инфекциям. При инфицировании листьев картофеля *in vitro* использовали обыкновенные штаммы следующих фитовирусов: YVK и MBK. Концентрацию белков в образцах определяли согласно модифицированной методике Bradford. Фракционирование суммарных белков проводили с использованием пластин 10 – 13%-ного ПААГ в присутствии 10% ДДС-Na по модифицированному методу Лэммли. Известно, что развитие антивирусной устойчивости при обработке растений некоторыми химическими веществами не всегда сопровождается синтезом PR-белков. Это позволяет нам предположить, что исследуемый индуктор может активировать защитные реакции картофеля *in vitro*, модулируя экспрессию белков, в частности белков с мол. м. в пределах 50 – 53 и 70 – 73 кД. Таким образом, витамин Е, является естественным индуктором системной антивирусной устойчивости и модулятором белкового метаболизма.

На основании анализа полученных результатов и их всестороннего обсуждения сформулированы следующие выводы:

1) формирование системной устойчивости при действии витамина Е при инфицировании фитовирусами у толерантного к вирусам картофеля сопровождается ослаблением экспрессии белков с мол. м. в диапазоне 50 – 73 кД;

2) развитие системной антивирусной устойчивости в некоторых экспериментах сопровождается накоплением индуцибельных белков. У картофеля сорта Невский детектируется специфический белок с мол. м. около 33 кД после инфицировании YVK;

3) высказано предположение о наличии у растений картофеля общих и альтернативных путей формирования системной устойчивости, специфически регулируемых витамином Е.

Работа была частично выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований № 08-04-97011 p\_поволжье\_a.

## **ЭКСПРЕССИЯ ПРОСИСТЕМИНОВОГО И ПРОТЕИНКИНАЗНОГО ЛОКУСОВ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОГО ТАБАКА ПРИ СИСТЕМНОЙ АНТИВИРУСНОЙ УСТОЙЧИВОСТИ**

Рожнова Н.А., Геращенко Г.А., Одинцова Т.И.\*

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, пр. Октября 71, 450054 Уфа, тел.:(347)2356088, факс:(347)2356100

\* Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, тел.:(499)1356213, факс:(499)1351289

E-mail: [rozhnova@mail.rb.ru](mailto:rozhnova@mail.rb.ru) (Рожновой Н.А.), [odintsova2005@rambler.ru](mailto:odintsova2005@rambler.ru)

Известно, что в реализации молекулярно-генетических механизмов системной индуцированной устойчивости особое место принадлежит генам протеинкиназ и просистемина. Цель нашей работы – изучение паттернов экспрессии ключевых генов (протеинкиназ и просистемина) антивирусной индуцированной устойчивости у растений гиперчувствительного табака Samsun NN. Мы использовали метод быстрой амплификации 3'-концов кДНК – 3'-RACE (Rapid Amplification of cDNA Ends) для анализа дифференциально экспрессирующихся транскриптов из различных тканей гиперчувствительного табака при формировании локальной и системной антивирусной устойчивости к ВТМ. В общей сложности было проанализировано 51 пара праймерных комбинаций для MAP-киназного локуса и 34 пары праймерных комбинаций для просистеминного гена. Анализ профилей транскрипции спустя 2, 4 и 48 час не выявил существенных различий. Незначительный полиморфизм спектров был обусловлен минорными компонентами в спектрах. При этом ни один из 3'-RACE ампликонов не был общим в вариантах при иммунизации элиситорами или ВТМ-вакцинации. Причиной низкой гетерогенности изученных спектров транскрипции может быть и то обстоятельство, что системин-подобные гены табака, активирующие синтез защитных протеиназ подобно тому, как это делает системин у томата, могут иметь иную структуру. Этот феномен отсутствия гомологии между системин томатов и системин-подобными защитными белками табака был установлен в лаборатории Clarence A. Ryan (Pearce et al 2001). С другой стороны, вероятной причиной отсутствия существенных различий в 3'-RACE спектрах, гомологичных протеинкиназным генам, может быть неудачный подбор темпорального интервала, так как данные для интактных растений табака отсутствуют. Таким образом, 3'-RACE анализ генов просистемина и протеинкиназ в модельной системе гиперчувствительного табака

Samsun NN, при которой было проанализировано 85 пар праймерных комбинаций, не позволил детектировать молекулярные маркеры антивирусной индуцированной устойчивости.

Работа была частично выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований № 08-04-97011 p\_поволжье\_a.

## **ВОДНЫЙ ОБМЕН ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ (*Triticum aestivum* L.) ПРИ ДЕЙСТВИИ СВИНЦА**

Роньжина Е.С., Берников Л.Р.

ФГОУ ВПО «Калининградский государственный технический университет»;  
Советский пр., 1, 236000 г. Калининград, тел.: (4012)995964, факс: (4012)916846

E-mail: [ron-box@mai.ru](mailto:ron-box@mai.ru), [ron-box@rambler.ru](mailto:ron-box@rambler.ru) (Роньжиной Е.С.)

Почвы Калининградской области подвергнуты значительному антропогенному загрязнению. Из поллютантов наибольшую опасность представляют тяжелые металлы, среди которых особенно велика негативная роль свинца, влияние которого на растения еще требует детального изучения. Поэтому целью настоящей работы явилось изучение действия свинца на комплекс структурно-функциональных показателей, характеризующих водный обмен растений на начальных этапах онтогенеза.

Опыты проведены на 10-суточных проростках яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) по мере их роста. Проростки выращивали на питательном растворе с добавлением нитрата свинца в дозах, необходимых для достижения концентрации  $Pb^{2+}$  в диапазоне от 0,01 до 1,00 мг/л. Контрольные растения выращивали на растворе без добавления свинца.

Мы предположили, что именно корневая система, первой сталкиваясь с неблагоприятными условиями, может наиболее остро реагировать на повышение концентрации свинца в среде выращивания. Однако масса корней под действием свинца также менялась незначительно, не более, чем на 10-12%. В то же время, слегка уменьшалось количество придаточных корней на растении, но благодаря несколько увеличивающейся средней длине каждого отдельного корня суммарная длина и объем корневой системы растения не изменялись или даже слегка возрастала. Величина общей и рабочей адсорбирующей поверхности корня под действием свинца

также менялись незначительно. Вероятно, повышение уровня свинца в изученном диапазоне концентраций весьма незначительно влияет на формирование корня. Скорее всего, нарушения водного обмена растений при действии свинца, о которых сообщается в литературе, связаны с функционированием не корневой системы, а листьев.

В диапазоне концентраций 0,01-0,03 мг/л  $Pb^{2+}$  стимулировал, а в более высоких – тормозил рост первого листа, изменяя его площадь и не влияя на толщину. При этом накопление биомассы надземной части проростков и, в частности, листьев, уменьшалось на 10-12%. Потеря воды листом, оцененная по интенсивности и относительной транспирации, при низких концентрациях  $Pb^{2+}$  не изменялась, но начинала уменьшаться при повышении концентрации до 0,30-1,00 мг/л. Нам не удалось выявить четкую концентрационную и онтогенетическую зависимость изменения осмотического потенциала листьев пшеницы при действии свинца. Однако была обнаружена отчетливая реакция растений, проявившаяся в сильной аккумуляции пролина в ответ на действие этого тяжелого металла что, возможно, свидетельствует о включении системы осмотической и антиоксидантной защиты.

Полученные результаты обсуждаются с позиции защитно-приспособительных реакций растений на действие неблагоприятных факторов.

## **ПОВЫШЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ КУКУРУЗЫ (*Zea mays* L.) К СТРЕССОВЫМ ВОЗДЕЙСТВИЯМ С ПОМОЩЬЮ АУКСИНА И ЦИТОКИНИНА**

Роньжина Е.С., Калинина Е.А.

ФГОУ ВПО «Калининградский государственный технический университет»;  
Советский пр., 1, 236000 г. Калининград, тел.: (4012)995964, факс: (4012)916846

E-mail: [ron-box@mai.ru](mailto:ron-box@mai.ru), [ron-box@rambler.ru](mailto:ron-box@rambler.ru) (Роньжиной Е.С.), [amelija@mail.ru](mailto:amelija@mail.ru)

Повышение устойчивости растений к стрессовым воздействиям особенно важно для эффективного управления количеством и качеством урожая тех сельскохозяйственных культур, которые возделываются в условиях, отличных от оптимальных. В Калининградской области такой культурой является кукуруза (*Zea mays* L.). Высокая продуктивность этой культуры, определяющаяся  $C_4$ -типом фотосинтеза и интенсивными ростовыми процессами, обусловила ее широкое использование в пищевых

и кормовых целях. Однако недостаток ФАР, суммы эффективных температур и избыточное увлажнение почвы в критические периоды развития позволяют возделывать эту культуру в регионе лишь на зеленую массу и силос с относительно невысокой урожайностью 13-18 т/га.

Мы предположили, что уменьшить действие этих неблагоприятных факторов на растения кукурузы и повысить ее продуктивность можно с помощью фиторегуляторов ауксиновой и цитокининовой природы.

Поэтому в работе было изучено действие ауксина ИМК и цитокинина БАП на интегральные физиологические характеристики (рост, фотосинтетическую и дыхательную функции) вегетативных надземных органов в онтогенезе растений кукурузы и урожай зеленой массы этой культуры.

Полученные результаты показали, что:

– Ауксин и цитокинин в оптимальных концентрациях ( $10^{-5}$ М и  $10^{-4}$  М соответственно) активируют рост вегетативных надземных органов (стебля и листьев) интактных растений кукурузы.

– ИМК и БАП стимулируют формирование мезоструктуры листа (деление, рост клеток мезофилла, репликацию пластид, накопление фотосинтетических пигментов), активируют фотосинтетическую и дыхательную функцию листьев. При этом отношение интенсивность фотосинтеза/интенсивность дыхания повышается.

– Обработка растений водными растворами ИМК ( $10^{-5}$  М) и БАП ( $10^{-4}$  М) приводит к увеличению чистой продуктивности фотосинтеза, а также к повышению урожая зеленой массы кукурузы (на 7-9% при действии ауксина и на 12-14% - цитокинина).

## **О ВКЛАДЕ ВАКУОЛЯРНЫХ $\text{Na}^+/\text{H}^+$ - АНТИПОРТЕРОВ В УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ К СОЛЕВОМУ СТРЕССУ**

Рослякова Т.В., Васекина А.В., Лазарева Е.М., Бабаков А.В.

Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии РАСХН;  
ул. Тимирязевская 42, 127550 Москва, тел.: (495)9766544, факс: (495)9770947

E-mail: [avb@iab.ac.ru](mailto:avb@iab.ac.ru) (Бабакову А.В)

Вакуолярные  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  антипортеры принимают самое непосредственное участие в поддержании низкой концентрации  $\text{Na}^+$  в цитозоле клеток растений. Энергию для их работы поставляют вакуолярные  $\text{H}^+$ -АТФаза и  $\text{H}^+$ -пирофосфатаза. Аминокислотные последовательности антипортеров

содержат в своей N-концевой части обычно 9-12 гидрофобных доменов и в C-концевой части гидрофильный участок длиной около 100 аминокислотных остатков. Наибольшая идентичность в аминокислотных последовательностях разных вакуолярных Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> антипортеров наблюдается в гидрофобной области, определяющей ионообменную активность антипортера, наименьшая – в гидрофильной, с которой связывают регулируемую активность. Нами в проростках ячменя разных сортов, отличающихся по устойчивости к солевому стрессу, проведено исследование 3-х изоформ вакуолярного Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> антипортера HvNHX1-3. Цитохимическое исследование показало, что все три белка HvNHX1-3 присутствуют в одних и тех же клетках практически всех тканей корня как в тонопласте, так и в превакуолярных везикулах. Установлено также, что в процессе солевого стресса увеличивается содержание всех трех изоформ в вакуолярных мембранах проростков ячменя и что этот процесс протекает более ярко выражено у устойчивого сорта. Показано, что количественный рост HvNHX1-3 в стрессовых условиях связан с регуляцией экспрессии HvNHX1-3 на транскрипционном и на трансляционном уровнях. Полученные результаты свидетельствуют в пользу того, что сортовая солеустойчивость ячменя коррелирует с интенсивностью Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> обмена на вакуолярных мембранах в контрольных условиях и со способностью ее регуляции в стрессовых. Конечные размеры объема вакуолей накладывают ограничения на их способности к длительному поддержанию низкой концентрации Na<sup>+</sup> в цитозоле клеток растений, поэтому предложена отличная от компартментации Na<sup>+</sup> интерпретация взаимосвязи между солеустойчивостью и интенсивностью Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> обмена на вакуолярных мембранах.

## **МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ОПУШЕНИЯ ЛИСТЬЕВ РИСА (*Oryza sativa* L.)**

Рысбекова А.Б., Мамонов Л.К., Полимбетова Ф.А., Таранов О.Н.

Институт биологии и биотехнологии растений КН МОН РК; ул. Тимирязева, 45, 050040, г. Алматы, тел.: 8 (727) 394-75-63, факс: 8 (727) 394-75-62

E-mail: [gen\\_maleo@yahoo.com](mailto:gen_maleo@yahoo.com); [aiman\\_rb@mail.ru](mailto:aiman_rb@mail.ru)

Опушение (трихомы) листовой пластинки являются производными эпидермиса и выполняют ряд важных функций в растениях, таких как защита от вредителей и патогенов, водосбережение, секреция вторичных метаболитов, а также ряд других (Callow J.A., 2000).

Цель данного исследования – провести сравнительный морфологический анализ опушения листьев риса (*Oryza sativa* L.). Объектами исследования служили сорта (Баканасский, Мадина, Алтынай, Аналог-2) и гибриды первого и пятого поколений (БР-1-F<sub>1</sub>, БР-2-F<sub>1</sub>, БР-3-F<sub>1</sub>, БР-4-F<sub>1</sub>, БР-5-F<sub>1</sub>, БР-6-F<sub>1</sub>, БР-7-F<sub>1</sub>, БР-8-F<sub>1</sub>, БР-9-F<sub>1</sub>, БР-10-F<sub>1</sub>, ГС-205-F<sub>1</sub>, ГС-206-F<sub>1</sub>, ГС-207-F<sub>1</sub>, ГС-176-F<sub>5</sub>, ГС-180-F<sub>5</sub>, ГС-186-F<sub>5</sub>, СПЕ-21-F<sub>5</sub>) риса выращенные в условиях оранжереи. Для сравнительного анализа морфологии клеток опушения риса в фазе полного кущения были использованы парадермальные срезы листьев исследуемых объектов. Согласно литературным данным, распределение трихом растений может быть самым различным. Например, у некоторых растений волоски располагаются на обеих сторонах, у других растений волоски находятся только на нижней стороне. В результате микроскопического анализа выявлено, что у сортов Мадина, Алтынай, Аналог-2 и у гибридов БР-3-F<sub>1</sub>, БР-4-F<sub>1</sub>, БР-5-F<sub>1</sub>, БР-10-F<sub>1</sub> на обеих сторонах листовой пластинки волоски практически отсутствуют, только по краям листа встречаются короткие волоски, расширенные в основании. В других исследуемых образцах волоски расположены на верхней стороне листовой пластинки, на нижней стороне листовой пластинки волоски не встречаются. Например, на адаксиальной стороне листовой пластинки сорта Баканасский и у гибридов БР-7-F<sub>1</sub>, БР-7-F<sub>1</sub>, БР-7-F<sub>1</sub>, БР-7-F<sub>1</sub>, БР-7-F<sub>1</sub>, БР-7-F<sub>1</sub> количество трихом на 1 мм<sup>2</sup> в среднем составило 3,1±0,6. Этот показатель у гибридов ГС-205-F<sub>1</sub>, ГС-207-F<sub>1</sub>, ГС-186-F<sub>5</sub> в среднем составило 1,3±0,1. По сравнению с другими образцами у гибрида ГС-180-F<sub>5</sub> отмечается значительно большее количество трихом на 1 мм<sup>2</sup>, в среднем 6,8±0,9. Сравнительный анализ размеров длины клеток опушения листьев исследуемых объектов показывает, что размеры опушения существенно различаются у разных сортов и гибридов. Выявлены гибриды растений БР-1-F<sub>1</sub>, БР-7-F<sub>1</sub>, ГС-206-F<sub>1</sub>, ГС-180-F<sub>5</sub>, которые характеризуется наиболее интенсивным опушением листовой пластинки по сравнению с другими образцами. Например, если длина клеток опушения составляла у гибридов: БР-1-F<sub>1</sub> 0,53±0,04; БР-7-F<sub>1</sub> 0,65±0,06; ГС-206-F<sub>1</sub> 0,60±0,06; ГС-180-F<sub>5</sub> 0,60±0,05 мм, то у остальных образцов данный показатель в среднем был меньше в два раза.

Таким образом, по результатам сравнительного морфологического анализа установлены существенные различия в опушении листовой пластинки сортов и гибридов риса. Учитывая, что у ряда зерновых культур опушение листьев коррелирует со многими хозяйственно-ценными признаками, а также выявленные нами различие в проявлениях этого признака у созданных нами ранее сортов и гибридов риса разных поколений свидетельствует, что для селекции риса в Казахстане дальнейшее изучение этого показателя является целесообразным.



## **ИНДУКЦИЯ АУТОФАГИИ В КЛЕТКАХ КОРНЕЙ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА**

Рябовол В.В., Пономарева А.А., Минибаева Ф.В.

Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН; ул. Лобачевского 2/31, 420111 Казань, тел.:(843)2319045, факс:(843)2927347

E-mail: [viktoriavadimovna@yandex.ru](mailto:viktoriavadimovna@yandex.ru)

В течение жизнедеятельности живых организмов образование поврежденных макромолекул и органелл является естественным процессом. Основным биологическим механизмом, обеспечивающим уничтожение такого «клеточного мусора», служит аутофагия, в ходе которой удаляемые компоненты захватываются двумембранными везикулами – аутофагосомами, которые затем сливаются с вакуолью, где и подвергаются деградации. Аутофагия индуцируется как в ходе развития, так и при действии различных абиотических и биотических стрессоров, в том числе при окислительном стрессе, сопровождающимся аккумуляцией активных форм кислорода (АФК). Настоящая работа посвящена выяснению АФК-специфичных и АФК-неспецифичных механизмов образования аутофагосом в клетках корней пшеницы *Triticum aestivum*. Окислительный стресс индуцировали с помощью различных прооксидантов: специфического прооксиданта параквата (Пк) и неспецифических прооксидантов салициловой кислоты (СК) и LiCl. Визуализацию аутофагии осуществляли с помощью флуоресцентного маркера аутофагосом Lyso Tracker Red DND-99 с использованием лазерного конфокального микроскопа LSM-510 META. Специфичность образования аутофагосом подтверждали с помощью ингибитора аутофагии 3-метиладенина. Обработка интактных проростков прооксидантами в течение 12 ч индуцировала образование аутофагосом в корнях. Предобработка растений пшеницы антиоксидантом тироном (10 мМ) способствовала значительному уменьшению этого эффекта при действии Пк (0,1 мМ), но не СК (1 мМ) и LiCl (10 мМ). Можно полагать, что образование аутофагосом при действии СК и LiCl обусловлено не только их прооксидантным действием, но и воздействием на другие сигнальные пути в клетках растений. Так, СК обладает протонфорными свойствами и может способствовать закислению цитоплазмы и изменениям в энергетическом метаболизме, а ионы Li<sup>+</sup> ингибируют ферменты инозитольного цикла. АФК индуцируют аутофагию посредством активации специфической протеиназы ATG4, которая содержит цистеиновые остатки и является редокс-сенсором в клетке. ATG4 *T. aestivum* содержит 13 цистеиновых остатков, 9 из которых являются высококонсервативными для злаковых. На основе множественного выравнивания аминокислотных последовательностей и построения

филогенетического древа цистеиновых протеиназ мы предположили, что редокс-регуляция этого фермента у *T. aestivum* осуществляется через Cys167 (ATG4) и Cys169 (ATG4.2). Эти цистеиновые остатки могут подвергаться быстрой и обратимой посттрансляционной модификации, что способствует активации фермента и в дальнейшем приводит к образованию аутофагосом. Таким образом, в условиях окислительного стресса необходимость удаления из цитоплазмы окисленных макромолекул и поврежденных внутриклеточных структур путем аутофагии способствует выживанию клетки, не вызывая ее гибели. В то же время в условиях жесткого стресса интенсивная аутофагия является формой программируемой клеточной смерти.

## **ОСОБЕННОСТИ РОСТА И РАЗВИТИЯ СЕЯНЦЕВ (*Pinus sylvestris* L.) В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ СВИНЦА**

Савочкин Ю.В., Иванов Ю.В.

Учреждение Российской академии наук Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая 35, 127276 Москва, тел.: (499)2318359

E-mail: [savochkinmail@mail.ru](mailto:savochkinmail@mail.ru)

Свинец считается одним из наиболее опасных загрязнителей лесных экосистем, так как проявляет токсические свойства при сравнительно низких концентрациях. Исследование токсического действия свинца проводили на сеянцах *Pinus sylvestris* L. Сеянцы выращивали в условиях водной культуры на модифицированной питательной среде по Ингестаду, содержащей 10, 25, 50, 80, 100 и 150 мкМ ацетата свинца. Продолжительность светового периода в камере фитотрона составляла 16 ч. Возраст к моменту окончания эксперимента составлял 6 недель (сформирована корневая система и первичная хвоя). Корневая система выступает первичным барьером, защищающим растение от проникновения ионов тяжелых металлов в клетки растений. Повышение концентрации свинца приводило к ингибированию роста корня в длину от 10 до 30% в концентрациях 10-50 мкМ и до 50-60% в концентрациях 100 и 150 мкМ по отношению к контрольным растениям. Отмечено, что в условиях действия концентрации 80 мкМ и выше корневая система исследуемых растений отличалась сильными повреждениями и практически полным отсутствием корней низших порядков. Скапливаясь на поверхности корня, ионы свинца нарушают функционирование системы транспорта питательных веществ и ограничивают их поступление в растение, что приводит к выше описанным последствиям. С недостатком питательных веществ мы также связываем ингибирование роста, и развития

первичной хвои и семядолей сеянцев. Так, ингибирование роста в длину хвои и семядолей достигало до 13% при максимальных концентрациях по отношению к контролю. В тоже время признаков хлороза хвои, свойственного при действии тяжелых металлов, не отмечалось. Это явление, как мы полагаем, объясняется ограничением проникновения ионов свинца в хвою, за счет барьерных функций корневой системы. Изменение длины стволиков в условиях действия различных концентрациях ацетата свинца проходило неоднозначно. Так в концентрациях 10, 25 и 50 мкМ отмечалось стимулирующее действие свинца на 2, 8 и 4% соответственно. Действие повышенных концентраций приводило к ингибированию длины стволиков до 13% по отношению к контрольным растениям. Недостаток питательных веществ и нарушение роста и развития основных органов сеянцев привели к недобору биомассы сеянцами от 4% при концентрации 10 мкМ до 38% при концентрации 150 мкМ по отношению к контрольным растениям. Таким образом, все исследованные концентрации являются токсичными для сеянцев *Pinus sylvestris* L. Наиболее опасными концентрациями ацетата свинца оказались 100 и 150 мкМ. Их действие приводило к значительным повреждениям корневой системы, следствием чего может быть полегание и полная гибель сеянцев.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 10-04-00799-а и Программы Президиума РАН “Молекулярная и клеточная и биология”.

## **ПОВЫШЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ЦИТОКИНИНОВ В ЛИСТЬЯХ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ (*Triticum aestivum* L.) ПРИ КРАТКОВРЕМЕННОМ ВЫСОКОТЕМПЕРАТУРНОМ СТРЕССЕ**

Садовниченко Ю.А.\*, Красильникова Л.А.\*\*

\* Национальный фармацевтический университет; ул. Мельникова, 12, 61002 Харьков, Украина, тел.: +38(057)7520346, факс: +38(057)7063073

\*\* Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина; пл. Свободы, 4, 61077 Харьков, Украина, тел.:+38(057)7075482

E-mail: [sadovnychenko@mail.ru](mailto:sadovnychenko@mail.ru)

Согласно классическим представлениям о стрессе у растений пара фитогормонов цитокинины/АБК определяет протекание процесса адаптации: включение стрессовых реакций сопряжено со снижением концентрации цитокининов в тканях, а их завершение – с ее повышением на фоне убывания содержания АБК. Однако разнообразие и полифункциональность цитокининов, их накопление в жизненно важных органах растений, более

успешное переживание неблагоприятных условий IPT-трансформированными растениями, использование одних и тех же рецепторов со стрессорами, а также необходимость присутствия цитокининов для восприятия снижения осмотического давления двухкомпонентной гистидинкиназой ANK4/CRE1/WOL требует пересмотра этого положения. Поэтому целью данной работы было изучение динамики цитокининов в листьях озимой пшеницы двух сортов – Харьковской 96 и Донецкой 46 – при кратковременном воздействии высокой температуры.

Растения озимой пшеницы подвергали действию повышенной температуры (38-40°C) в восьмидневном возрасте, фоновой температурой для остальных служила температура 22-24°C. Пробы листьев брали через 1, 2, 5 и 15 мин температурного воздействия. Цитокинины экстрагировали, очищали и разделяли методом тонкослойной хроматографии. Содержание фитогормона во фракциях определяли при помощи ИФА.

При 22-24°C содержание цитокининов в течение 15 мин опыта в обеих исследованных фракциях существенно не изменялось. Повышение температуры вызывало кратковременное возрастание содержания зеатина в листьях пшеницы обоих сортов уже через 2 мин после начала стрессового воздействия, которое сменялось последующим снижением к концу исследуемого периода. В то же время наблюдалось падение концентрации рибозида зеатина в тканях листа, несколько запаздывавшее по сравнению с динамикой зеатина. По-видимому, это было связано с высвобождением свободного зеатина в листьях из связанных форм и задержкой оттока цитокининов в подземную часть растения.

Повышение содержания наиболее активной формы цитокининов – зеатина, вероятнее всего связано именно с трансдукцией стрессового сигнала и запуском адаптационных реакций.

## **ВЛИЯНИЕ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА И ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ У КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ**

Сазанова К.А., Пучкова О.А., Пыненкова Н.А., Башмаков Д.И., Лукаткин А.С.

ГОУВПО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева»;  
ул. Большевикская, 68, 430005 Саранск, тел.: (8342)322507; факс (8342)324554  
E-mail: [aslukatkin@yandex.ru](mailto:aslukatkin@yandex.ru) (Лукаткину А.С.)

Возрастающее поступление в окружающую среду тяжелых металлов (ТМ) приводит к загрязнению почвы, которая является основным источником поступления избыточных количеств ТМ в растения. В последние годы развивается теория возникновения окислительного

стресса при действии ТМ. Степень окислительного стресса в клетках оценивают по различным критериям, в т.ч. по интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ). ПОЛ приводит к нарушению функциональной и структурной целостности плазматических мембран. Известно, что существует большое количество биологически активных веществ (БАВ), применение которых повышает устойчивость растений к неблагоприятным факторам окружающей среды. Среди БАВ особое место занимают аналоги фитогормонов и синтетические регуляторы роста. Их преимуществом является низкая концентрация, в которой они оказывают специфическое действие, и высокая эффективность.

В работе изучено действие регуляторов роста Эпин-экстра (1 мкМ), цитодеф (0,1 мкМ) и Рибав-экстра ( $10^{-3}$  %) на растения огурца и пшеницы на фоне физиологических (10 мкМ) и сублетальных (1 мМ) концентраций ионов  $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$  и  $Ni^{2+}$ . Семена замачивали 4–8 ч в растворах регуляторов роста, затем переносили на растворы, содержащие ионы ТМ и выращивали в водной культуре в факторостатных условиях (при температуре 22–24 °С, 16-часовом световом дне и освещенности 2000 лк). Спустя 7 сут в листьях измеряли содержание продукта ПОЛ – малонового диальдегида (МДА).

Максимальное увеличение интенсивности ПОЛ в листьях пшеницы вызывали ионы  $Cu^{2+}$ , в растениях огурца – ионы  $Ni^{2+}$ , а минимальное – ионы  $Zn^{2+}$  и  $Pb^{2+}$  (у обоих видов). В опытах с предпосевной обработкой регуляторами роста в ряде вариантов отмечено снижение концентрации МДА. При этом действие различных регуляторов роста было неоднозначным на фоне разных ТМ. Так, при экспозиции растений пшеницы и огурца на растворах, содержащих  $Pb^{2+}$ , показано снижение интенсивности ПОЛ в варианте с обработкой семян цитодефом. Токсичность ионов  $Ni^{2+}$  для пшеницы понижал Эпин-экстра, а для растений огурца – цитодеф и Рибав-Экстра. Уменьшение интенсивности ПОЛ на фоне ионов  $Zn^{2+}$  отмечено в вариантах с обработкой семян огурца цитодефом и Рибав-Экстра. Сравнение эффективности регуляторов роста на фоне различных концентраций ТМ показало их усиление с возрастанием концентрации  $Pb^{2+}$  и снижение – при росте концентрации ионов  $Ni^{2+}$ . С повышением концентрации  $Zn^{2+}$  возрастала эффективность Рибав-Экстра и снижалась у цитодефа и Эпин-экстра; на фоне ионов  $Cu^{2+}$ , наоборот, наблюдали повышение эффективности цитодефа и Эпин-экстра и снижение – у Рибав-Экстра.

Таким образом, обработка семян огурца и пшеницы регуляторами роста способствовала нормализации состояния растений при длительном действии ионов ТМ, что показано по интенсивности ПОЛ в листьях растений. Максимальный положительный эффект наблюдали при обработке цитодефом.

## **ВОЗМОЖНОСТИ ПРЕОДОЛЕНИЯ СТРЕССА РАСТЕНИЙ С ПОМОЩЬЮ ГЕНА *ugt*, ИГРАЮЩЕГО ХЕЛПЕРНУЮ РОЛЬ, ПРИ ВВЕДЕНИИ ЧУЖЕРОДНЫХ ГЕНОВ**

Саляев Р.К., Рекославская Н.И.

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН; ул.Лермонтова 132, 664033 Иркутск-33, тел.: (3952)424658, факс: (3952)510754

E.mail: [salyaev@sifibr.irk.ru](mailto:salyaev@sifibr.irk.ru) (Саляеву Р.К.)

После трансформации растений при экспрессии чужеродных генов может происходить конфликт между метаболизмом растения - хозяина и экспрессируемым белком. Это связано с тем, что зачастую для создания трансгенных растений в целях биофарминга используются вирусные гены, кодирующие синтез антигенных белков, или химерные гены, составленные из фрагментов вирусных геномов. При этом часто бывает недостаточно одного лишь изменения кодона инициации (в соответствии с эукариотическим типом экспрессии) или оптимизации кодонов, характерных для растения – хозяина. Причиной данного затруднения является и то, что для успешной экспрессии как правило, необходимо иметь хорошо вегетирующие растения. В этих случаях накопление чужеродного белка не будет препятствием для нормального развития растения в целом. Так, например, антигенные белки вирусов иммунодефицита человека, папилломы человека, гепатита В, гепатита А, гепатита Е, респираторного синдрома птиц (SARS), введенные в растения, в разной степени угнетали их рост и развитие. В литературе также хорошо известны примеры накопления биodeградируемого пластика полиоксibuтирата (Lossl et al.2003) у арабидопсиса, увеличение содержания которого полностью подавляло фотосинтез и вследствие этого растение оставалось карликовым в виде розетки. С целью поиска решения, нами был использован ген *ugt* из кукурузы, кодирующий УДФГ - трансферазу (тривиальное название ИУК-глюкоза синтаза), в качестве хелперного гена, обеспечивающего нормальный рост и развитие растений. Продукт экспрессии этого гена катализирует связывание фитогормона индолилуксусной кислоты (ИУК) в конъюгированную форму с глюкозой, таким образом, обеспечивая необходимый для нормального роста и развития пул связанной ИУК. В нашей работе по изучению возможности создания бинарной кандидатной мукозальной вакцины против вируса иммунодефицита человека и гепатита В на основе трансгенных растений томата использовали химерный ген TBI-HBS, кодирующий 9 эпитопов ВИЧ-1 генов внешней оболочки *env* и нуклеокапсида *gag*, а также кодирующий основной антигенный белок

HBsAg вируса гепатита В. Экспрессия гена TBI-HBS значительно тормозила развитие трансгенного по этому гену томата, особенно это сказывалось на цветении и развитии плодов. Совместное введение гена *ugt* и TBI-HBS позволило получить трансгенные растения, способные переносить селективное давление в присутствии 100 - 300 мг/л канамицина, вносимого в среду Мурасиге и Скуга. После перенесения отобранных растений томата в теплицу и их выращивания удалось получить высокий урожай плодов, содержащих антигены ВИЧ и гепатита В.

## **МЕДЛЕННОРАСТУЩИЕ КОЛЛЕКЦИИ *in vitro* КАК СПОСОБ СОХРАНЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ ЦИТРУСОВЫХ КУЛЬТУР В РОССИЙСКИХ СУБТРОПИКАХ**

Самарина Л.С., Коломиец Т.М.

ГНУ ВНИИ цветоводства и субтропических культур, 354002 г. Сочи, ул. Я. Фабрициуса, 2/28, тел. (8622) 96-40-21, факс: (8622) 96-42-46

E-mail: [q11111w2006@yandex.ru](mailto:q11111w2006@yandex.ru).

Сочинское Причерноморье является самой северной зоной в субтропическом земледелии. Климат характеризуется вертикальной зональностью, граница субтропического климата расположена на высоте около 400 м над уровнем моря, и выращивание мандаринов (*C. unshiu*), одних из самых холодостойких видов рода *Citrus*, на этой территории рентабельно. Главным лимитирующим фактором выращивания других видов рода *Citrus* в российских субтропиках является температура. Из-за периодически повторяющихся морозов содержание коллекции цитрусовых в открытом и защищенном грунте очень рискованно и сопряжено с большими материальными затратами.

Традиционные способы селекции на холодоустойчивость, как правило, неэффективны для рода *Citrus*, т.к. выведенные холодостойкие формы имеют такие отрицательные качества, как горечь, низкое содержание сахаров в плодах, и др. Благодаря многолетним исследованиям, проведенным на базе ВНИИЦ и СК накоплен большой опыт в работе с цитрусовыми культурами и создана их коллекция, представленная 160 видами и сортами. В связи с высоким риском содержания полевой коллекции встал вопрос о применении более эффективного способа сохранения этого ценного разнообразия генетических ресурсов.

Медленнорастущие коллекции *in vitro* являются более надежным и экономичным способом сохранения биоразнообразия. Растения в них содержатся в состоянии замедленного роста, что достигается культивированием при пониженных температурах и освещении, добавлении в питательные среды веществ, замедляющих рост. Кроме того, методы культуры тканей растений открывают новые возможности для селекции и для получения генетически модифицированных растений, устойчивых к болезням, переносящих низкие температуры и засуху. В связи с этим нами начаты исследования по изучению особенностей регенерации и микроразмножения сортов лимонной группы, как одних из самых слабохолодостойких представителей рода *Citrus*.

Для введения в культуру тканей брали побеги весеннего прироста от 3-10 летних растений *Citrus limon* (L.) Burm. В результате проведенных исследований установлено: 1). На этапе поверхностной стерилизации побегов с почками для введения в культуру тканей наибольший процент выхода стерильных эксплантов был получен при обработке их велтоленом 0,2% 30 мин и последующей обработке этанолом 96% 2 сек; 2). Эффективность регенерации зависит от генотипа, возраста маточных растений, способа стерилизации и типа эксплантов, состава питательной среды. Наибольшая частота органогенеза была отмечена на питательной среде, содержащей БАП 0,1 мг/л + НУК 0,5 мг/л; 3). Наибольший коэффициент размножения наблюдался на питательной среде, содержащей БАП 1 мг/л и НУК 0,5 мг/л. Исключение из питательной среды цитокинина БАП способствует индукции корнеобразования.

## **УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ К НИЗКИМ ПОЛОЖИТЕЛЬНЫМ ТЕМПЕРАТУРАМ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ХРАНЕНИИ *in vitro***

Саматова И.С.\* , Шарова Е.И.\* , Антонова О.Ю.\*\* , Дунаева С.Е.\*\* ,  
Щипарев С.М.\* , Гавриленко Т.А.\*\* , Медведев С.С.\*

\* Санкт-Петербургский госуниверситет; Университетская наб., 7/9, 199034, Санкт-Петербург, тел.: (812)3289695, факс: (812)3289703.

\*\* ГНЦ ВИР им. Н.И. Вавилова; ул. Большая Морская, 42-44, Санкт-Петербург

E-mail: [ssmedvedev@mail.ru](mailto:ssmedvedev@mail.ru)

Одним из распространенных способов длительного хранения *in vitro* является депонирование пробирочных растений в условиях низких положительных температур. Однако такие условия хранения могут



воздействовать на растения как стрессовый фактор.

Целью работы являлось изучение способности к длительному хранению при +4°C различных сортов ежевики, малины и земляники из коллекции ВИР им. Н.И. Вавилова.

Исследована динамика свободного пролина, хлорофиллов, аскорбиновой кислоты, пероксида водорода и активности пероксидаз.

В течение первых 4-х месяцев хранения ежевики при +4°C содержание свободного пролина повышается, а к 12 месяцу резко снижается. В условиях низкотемпературного хранения *in vitro* микрорастений ежевики уровень хлорофиллов *a* и *b* снижается на 40%. Содержание восстановленной аскорбиновой кислоты у всех сортов ежевики в условиях низкотемпературного хранения снижается почти в 10 раз уже через 4 месяца; а к 8 месяцу хранения ее уровень составляет 0,03 мг/г сырой массы.

В течение 8 месяцев низкотемпературного хранения микрорастений ежевики активность пероксидаз повышается, а затем происходит снижение активности этого фермента. Уровень  $H_2O_2$  в течение первых 4-х месяцев хранения не изменяется, а затем постепенно возрастает. Увеличение активности пероксидаз на первых этапах хранения, по-видимому, способствует поддержанию содержания пероксида водорода на исходном уровне.

Для оценки выживаемости микрорастений ежевики в условиях низкотемпературного хранения *in vitro* в качестве экспресс-теста предложен мониторинг уровня пероксида водорода.

Проведен молекулярный анализ микрорастений, сохраняемых в условиях *in vitro*, и исходных растений. В исследование было включено 40 RAPD-праймеров, 24 из которых генерировали амплификационные фрагменты. RAPD-спектры сохраняемых *in vitro* микрорастений не отличаются от спектров исходных растений и их полевых аналогов.

Установлено, что при низкотемпературном хранении (+4°C) пробирочных растений сроком до одного года защитные реакции растительного организма компенсируют разрушительное воздействие стрессовых условий. Поэтому через 12 месяцев хранения *in vitro* большая часть микрорастений (не зависимо от вида и сорта) остается жизнеспособной. Данный срок (12 месяцев) можно рекомендовать для депонирования *in vitro* коллекций малины, ежевики, земляники при низких положительных температурах.

Исследование поддержано грантами Biovariety International/Vavilov Genebank/LoA 07/053, РФФИ 05-04-49619 и РФФИ 08-04-00566.

## ФИТОСИДЕРОФОРЫ И МЕТАЛЛОУСТОЙЧИВОСТЬ ЗЛАКОВЫХ РАСТЕНИЙ

Сарсенбаев Б.А., Киршибаев Е.А., Шманов М.А.

Институт биологии и биотехнологии растений МОН РК; ул. Тимирязева, 45,  
050040 Алматы, Республика Казахстан, тел/факс.: (007-727)394-75-50

E-mail: [sbat08@rambler.ru](mailto:sbat08@rambler.ru)

В условиях дефицита железа, растения из сем. *Gramineae* (*Poaceae*), секретируют из корней непротеиногенные аминокислоты, называемые фитосидерофорами, которые растворяют и хелатируют неорганическое железо. Типичным представителем фитосидерофоров является мугинеевая кислота (*mugineic acid*). Предполагается, что фитосидерофоры играют универсальную роль в потреблении других следовых металлов, как Zn, Mn, Cu, которые имеют слабую растворимость в щелочных почвах. Фитосидерофоры – это железо-специфичные, обладающие высоким сродством к железу лиганды и являются частью системы поглощения железа, которая регулируется железом-статусом питания растений. Поскольку фитосидерофоры помимо ионов железа связываются также с ионами других металлов, и транспортируют их в растения, этот механизм синтеза сидерофор, имеющийся у злаковых растений, может использоваться для очистки почв, загрязненных ТМ. В настоящее время в мире интенсивно проводится скрининг и отбор растений, обладающих повышенной способностью к образованию сидерофор и накоплению ТМ.

Сбор и анализ сидерофор из экссудата корней ячменя, пырея ползучего, тимофеевки луговой и костра безостого проводили на 1,3,9,12,14 и 18 дни от начала железо дефицита. Наибольшее выделение фитосидерофор наблюдалось на 12 день. На 14-день наблюдалось снижение выделения фитосидерофор. На 18-ый день корни вовсе перестали выделять мугинеевую кислоту в ризосферу. Исходя из такой динамики выделения фитосидерофор, можно предположить, что растения на 12 день «голодания» по железу, достигают своего пика аккумуляции ионов тяжелых металлов. Интенсивность секреции фитосидерофор из корней пырея ползучего почти в 3 раза выше, чем у ячменя в период максимального выделения мугинеевой кислоты. Определение выделения фитосидерофор корнями тимофеевки луговой показало, что количество мугинеевой кислоты было более, чем в 2 раза меньше по сравнению с пыреем ползучим, и незначительно меньше, чем у ячменя. Наименьшее количество фитосидерофор выделялось корнями костра безостого. По способности корней выделять фитосидерофоры виды можно расположить следующим образом: *A. repens* > *H. vulgare* L.> *Ph. pratense* > *B.inermis*. Таким образом,

установлено, что дефицит железа подавляет рост надземных органов и корней культурного ячменя и диких видов злаковых растений, вызывает хлороз, индуцирует синтез и секрецию сидерофор. В ответ на стрессовую ситуацию корни злаковых растений выделяют фитосидерофоры для восполнения недостатка железа. Это свойство злаковых растений - выделять фитосидерофоры, способные связывать ионы тяжелых металлов, может быть использовано в технологии фиторемедиации почв, загрязненных тяжелыми металлами путем индукции фитоэкстракции.

## **ФОТОРЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА *SDH1-2* В РАСТЕНИЯХ *A. THALIANA* НОКАУТНЫХ ПО ГЕНАМ ФИТОХРОМОВ А И В**

Селиванова Н.В., Гончаренко И.Н., Ву Тхи Лоан, Федорин Д.Н., Епринцев А.Т.

Воронежский государственный университет, Университетская пл., 1, 394006, Воронеж, тел.: (4732)2088077, fax: (4732) 20-87-55.

E-mail: [rybolov@mail.ru](mailto:rybolov@mail.ru) (Федорин Д.Н.), [bc366@bio.vsu.ru](mailto:bc366@bio.vsu.ru).

Трансгенные растения представляют собой удобную модель для фундаментальной науки при решении широчайшего спектра общебиологических проблем. Использование нокаутных растений позволяет определить неизвестные функции генов. Механизм переключения метаболизма растительной клетки при изменении светового режима мало изучен, однако предполагается, что одним из таких возможных вариантов может быть регуляция фоторецепторной системой. Для решения данного вопроса представляется актуальным изучить влияние светового режима на уровень экспрессии гена *sdh1-2* сукцинатдегидрогеназы (КФ 1.3.99.1.) в листьях *Arabidopsis thaliana* дикого типа и дефицитных по генам фитохромов А и В.

Ранее нами было показано, что в зеленых листьях арабидопсиса наблюдается дифференциальная экспрессия генов СДГ, в частности, транскрибируется только ген *sdh1-2*. Для анализа его экспрессии в разных световых условиях использовали *A. thaliana* дикого типа и нокаутные растения по разным типам фитохрома. Проведенный анализ образцов кДНК из растений арабидопсиса дикого типа в условиях разного освещения позволил установить, что в растениях на свету и после облучения красным светом (КС) с длиной волны 660нм относительная концентрация мРНК значительно меньше, чем данный показатель в растениях, находящихся в темноте и после облучения

дальним красным светом (ДКС). Для выяснения роли и механизма действия разных типов фитохромов в регуляции экспрессии СДГ нами был проведен анализ содержания мРНК гена *sdh1-2* в листьях мутантных форм арабидопсиса, дефицитных по гену фитохрома А и В. Значение экспрессии гена *sdh1-2* в мутантных растениях, находящихся на свету и в темноте, сходно с таковой в растениях арабидопсиса дикого типа. Однако картина значительно изменилась после облучения мутантных растений КС. В растениях арабидопсиса, мутантных по гену фитохрома А, не происходило существенного изменения концентрации транскрипта гена по сравнению с темновым вариантом. В то время, как в растениях, мутантных по гену фитохрома В, относительная концентрация транскрипта после воздействия КС уменьшилась в 5,5 раза. Действие ДКС и последовательное действие КС и ДКС не вызывало существенного изменения уровня экспрессии гена *sdh1-2*. Картина изменения уровня транскрипции гена *sdh1-2* в растениях, мутантных по гену фитохрома В, аналогична картине в растениях дикого типа. Это свидетельствует о пассивности фитохрома В в регуляции экспрессии сукцинатдегидрогеназы.

Т.о., использование трансгенных растений позволило изучить фоторегуляцию функционирования СДГ активной формой фитохрома, путем контроля экспрессии гена исследуемого фермента.

## **СОРТОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ СТРЕСС-РЕАКЦИИ РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ ГЕРБИЦИДА ТРЕФЛАНА**

Семенчик Е.А., Кожуро Ю.И., Максимова Н.П.

Белорусский Государственный Университет, биологический факультет,  
пр. Независимости, 4, 220030 Минск, тел.: (017)2095860, факс:(017)2095808

E-mail: [e.semenchik@gmail.com](mailto:e.semenchik@gmail.com) (Семенчик Е.А.), [kazhura@tut.by](mailto:kazhura@tut.by)

Изучена зависимость между степенью индуцируемого трефланом повреждения микротрубочек цитоскелета и развитием ответной реакции на стресс у растений ячменя *Hordeum vulgare L.* сортов «Гонар», «Дзивосны» и «Сталы». Показано, что гербицид трефлан, индуцирует увеличение активности ферментов пероксидазного комплекса у растений ячменя сортов «Гонар» и «Дзивосны». Растения ячменя сорта «Сталы» обладают меньшей чувствительностью к гербицидному препарату трефлану. Об этом свидетельствуют меньшая степень

повреждений микротрубочек цитоскелета и отсутствие индукции пероксидазной активности. Показателями более высокой устойчивости растений ячменя сорта «Сталы» к стрессовым воздействиям может являться также меньший уровень перекисного окисления липидов и более высокое внутриклеточное содержание восстановленной формы глутатиона. Полученные результаты могут являться основой для разработки подходов направленной селекции устойчивых к действию антимикротрубочковых гербицидов растений ячменя.

## **НЕКОТОРЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ ДЕЙСТВИЯ СЛАБОГО ПОСТОЯННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА АНТИОКСИДАНТНУЮ СИСТЕМУ ПРОРОСТКОВ РЕДИСА**

Сердюков Ю.А., Новицкий Ю.И.

Институт физиологии растений им.К.А. Тимряева РАН; ул. Ботаническая 35, 127276 Москва, тел.:(499)2318338, факс (495)9778018

E-mail: [yinov@ippras.ru](mailto:yinov@ippras.ru) (Новицкому Ю.И.)

Изучали накопление пролина и глутатиона (окисленного и восстановленного), а так же малонового диальдегида (МДА) в проростках редиса (*Raphanus sativus L. var. radicola D. C.*) сорта «Розово-красный с белым кончиком». Растения выращивали в чашках Петри на фильтровальной бумаге в течении 4-5 дней на дистиллированной воде. Растения выращивались при 14-часовом световом дне при интенсивности 1000 лк и в темноте, при этом проростки находились в чашках, обернутых черной светонепроницаемой тканью. Измерения содержания пролина, окисленного и восстановленного глутатиона проводили на 1-3 сутки; измерение содержания МДА - на 5-е. Однородное горизонтальное постоянное магнитное поле создавалось кольцами Гельмгольца. Напряженность поля H составляла  $\approx 200$  А/м, что примерно в 5-6 раз сильнее геомагнитного.

Следует отметить, что многие эффекты действия магнитного поля на живые организмы трудно воспроизводимы ввиду множественности механизмов его воздействия, что отчасти определяется в значительной мере отсутствием точной характеристики электромагнитной обстановки. Полученные нами данные сильно варьировали от опыта к опыту, затушевывая взаимосвязь между исследуемыми параметрами. Тем не менее, было обнаружено, что количественные отношения

исследуемых параметров на свету к таковым в темноте в ГМП и ПМП значительно различны, а направленность этих различий в опытах остается неизменной. При этом, соотношение содержания пролина на свету к его содержанию в темноте, как правило было выше в контроле, чем в ПМП и составило для первых суток — 0,86 и 0,83; для вторых — 0,98 и 0,84; для третьих — 1,08 и 0,92, соответственно. У глутатиона, как окисленного, так и восстановленного эти отношения, наоборот, были более высокими в ПМП, а не ГМП. Для восстановленного глутатиона: 0,86 и 1,04 — в первые сутки; 0,97 и 0,99 — во вторые; 0,85 и 1,03 — на третьи, соответственно в контроле и опыте. Для окисленного глутатиона в первые сутки это отношение составило 0,75 и 0,94 в ГМП и ПМП; на вторые — 1,26 и 1,46, соответственно. Накопление — МДА, также сильно варьировало от опыта к опыту. Но соотношение количества МДА на свету к его содержанию в темноте оставалось неизменно выше в контроле, чем в опыте и в среднем на пятые сутки составило 1,04 (контроль) и 0,93 (опыт).

Наличие данных зависимостей в соотношениях «свет/темнота» может объясняться различными причинами: свет может являться важным кофактором действия магнитного поля на растения; либо фотосинтезирующие растения имеют большее количество структур, на которые магнитное поле может оказывать свое влияние. Необходимы дальнейшие исследования, которые могли бы прояснить внутренние причины формирования данных закономерностей.

## **РОСТИНГИБИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ И РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЦИНКА ПО ТКАНЯМ КОРНЯ ПРОРОСТКОВ КУКУРУЗЫ (*Zea mays* L.)**

Серегин И.В., Кожевникова А.Д., Быстрова Е.И., Иванов В.Б.

Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая 35, 127276 Москва, тел.:(495)2318324, факс:(495)9778018

E-mail: [ecolab-ipp@yandex.ru](mailto:ecolab-ipp@yandex.ru) (Серегину И.В.)

Цинк (Zn), как и другие тяжелые металлы, при повышенных концентрациях оказывает токсическое действие на физиологические процессы, что приводит к нарушению роста и морфогенеза растений. В работе исследовано распределение Zn по тканям и органам проростков кукурузы, а также его влияние на рост корня, деление и растяжение клеток. Двухдневные проростки инкубировали на ¼ раствора Хогланда

в присутствии 2 или 475 мкМ  $Zn(NO_3)_2$ . Для анализа ростингибирующего действия Zn оценивали ингибирование прироста первичного корня за первые и вторые сутки инкубации, измеряли среднюю длину меристемы, длину закончивших рост клеток; подсчитывали число клеток меристемы в ряду коры, а также рассчитывали продолжительность клеточного цикла. Распределение Zn по тканям и участкам корня изучали с использованием металлохромного индикатора цинкона и флуоресцентного индикатора Zinpyr-1, а по участкам корня также методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии. Zn накапливался преимущественно в корнях проростков кукурузы, что свидетельствует о ее принадлежности к исключателям. Содержание Zn в расчете на единицу массы при высокой концентрации металла в растворе было выше в базальном участке корня (третий сантиметр от зерновки), за счет накопления в примордиях боковых корней в результате его поступления из проводящих тканей, о чем свидетельствует низкое содержание Zn в окружающих примордий клетках коры при интенсивном окрашивании проводящих тканей, подходящих к примордиям. Zn накапливался также в меристематических клетках, как в апопласте, так и в протопластах клеток. Интенсивность окрашивания и флуоресценции меристематических клеток была выше, чем клеток в зоне растяжения. В среднем и базальном участках корня Zn выявлялся во всех тканях, преимущественно в апопласте. Причина преимущественного накопления Zn в корнях по сравнению с побегом (при высокой концентрации соли Zn в растворе) может быть связана с присутствием большого числа мест связывания металла в клеточных оболочках, а не является следствием наличия барьерных тканей. Zn ингибировал как деление, так и растяжение клеток. Под действием Zn размер меристемы и число клеток в меристеме уменьшалось, что определялось увеличением продолжительности клеточного цикла. Длина закончивших рост клеток также уменьшалась. Сравнительный анализ распределения и ростингибирующего действия Zn с другими тяжелыми металлами, изученными ранее, позволил заключить, что особенности токсического действия тяжелых металлов во многом определяются физико-химическими свойствами их ионов и особенностями передвижения и распределения металлов, в результате чего в разной мере могут затрагиваться два процесса, определяющих рост корня – деление и растяжение клеток.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Гранта РФФИ 08-04-00031.

## **ПОСЛЕДСТВИЯ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ Fe-ЗАВИСИМОЙ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ В ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЯХ ТОМАТА ПРИ ЕЕ НАПРАВЛЕНИИ В ХЛОРОПЛАСТ**

Серенко Е.К., Гулевич А.А., Баранова Е.Н., Куренина Л.В., Майсурян А.Н., Харченко П.Н.

Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии РАСХН; ул. Тимирязевская, 42, 127550 Москва, тел.: (495)9773141, факс: (495)9770947

E-mail: [katyaser@mail.ru](mailto:katyaser@mail.ru) (Серенко Е.К.), [greenpro2007@rambler.ru](mailto:greenpro2007@rambler.ru) (Барановой Е.Н.)

Большинство культурных растений постоянно находятся под воздействием различных биотических и абиотических стрессовых факторов. Растения имеют множество механизмов защиты и устойчивости к неблагоприятным условиям среды. Одна из ключевых ролей выполняется ферментами супероксиддисмутазами, которые благодаря своему уникальному свойству нейтрализовать супероксид-радикал, оберегают растение от оксидативного стресса. Поскольку большинство стрессов сопровождается выделением активных форм кислорода, то свойство супероксиддисмутазы расщеплять супероксид-радикал может быть использовано в биотехнологии для получения трансгенных растений, устойчивых к различным формам стресса. Ранее было показано, что активная форма кислорода оказывает деструктивное воздействие на мембраны хлоропластов. Поэтому если в растении будет синтезироваться супероксиддисмутаза и направляться в хлоропласт, то она должна будет препятствовать разрушению структуры хлоропласта.

В нашей работе была использована векторная система, содержащая ген Fe-супероксиддисмутазы и сигнальную последовательность, направляющую белок в хлоропласт. Было получено две линии растений томата сорта «Белый налив 231», трансгенный статус которых был подтвержден с помощью ПЦР, RT-ПЦР (на гены Fe- супероксиддисмутазы, *npt II* и *vir*-гены). Была проведена работа по определению активности Fe-супероксиддисмутазы и аскорбатпероксидазы в трансгенных растениях двух линий (№6 и №8) – в обоих случаях обнаружено повышение активности фермента Fe- супероксиддисмутазы по сравнению с контролем (кто и где делал? нужна ли ссылка?). У растений линии №8 также отмечено повышение активности аскорбатпероксидазы. Уровни активности аскорбатпероксидазы и Fe- супероксиддисмутазы находятся в равновесии, при котором супероксид-радикал и перекись последовательно и эффективно нейтрализуются в ходе процесса детоксикации.



При электронной микроскопии было отмечено, что ультраструктура клеток корневого чехлика, меристемы и зоны растяжения значительно различалась у трансгенных и не трансгенных растений, в присутствии Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> у трансгенных растений ультраструктура клеток меристемы сохранялась неповрежденной.

В хлоропластах растений обнаружены отличия в структуре, количестве, размере пластоглобул, тилакоидов, зерен крахмала.

Таким образом, полученные данные подтверждают то, что ген Fe- супероксиддисмутазы продемонстрировал важнейшую роль антиокислительных ферментов и их активное участие в механизме защиты от оксидативного стресса.

### **СВЕРХСПИРАЛИЗАЦИЯ ДНК УЧАСТВУЕТ В РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ СТРЕСС-ИНДУЦИРУЕМЫХ ГЕНОВ ЦИАНОБАКТЕРИИ *Synechocystis* sp. PCC 6803.**

Синетова М.А., Зорина А.А., Лось Д.А.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая, 35, 127276 Москва, тел.: (499)2318346, факс: (495)9778018

E-mail: [m\\_sinetova@yahoo.com](mailto:m_sinetova@yahoo.com)

Сигналы об изменении параметров окружающей среды воспринимаются различными сенсорными системами клетки и передаются по сетям передачи на ДНК, в результате изменяя экспрессию необходимых для адаптации генов. Но и сама молекула ДНК не является пассивным звеном в этой цепи. Изменения параметров окружающей среды прямо или косвенно влияют на уровень сверхспирализации ДНК. Изменения уровня сверхспирализации ДНК в свою очередь влияют на ДНК-зависимые процессы (транскрипцию, репликацию) и на взаимодействие ДНК с регуляторными элементами. Уровень отрицательной сверхспирализации ДНК в бактериальных клетках контролируют две топоизомеразы: ДНК-гираза увеличивает его, а ДНК-топоизомераза I снижает. Мы изучали экспрессию стресс-индуцируемых генов цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803 с использованием ДНК-микрочипов в условиях холодого (20°C, 30мин), солевого (0,5M NaCl, 30мин) и теплового (44°C, 30мин) стрессов в присутствии ингибитора ДНК-гиразы новобиоцина (50мкг/мл) и без него. Анализ данных по экспрессии генов, показал, что индуцируемое стрессом изменение сверхспирализации ДНК регулирует транскрипцию многих

генов, участвующих в стрессовом ответе у *Synechocystis*, включая гены, жизненно необходимые для акклиматизации клеток к изменившимся условиям окружающей среды. Функционирование двухкомпонентных регуляторных систем, которые известны как сенсоры и передатчики солевого, холодового и теплового стрессов (особенно гистидин-киназы Hik33 and Hik34), зависит от уровня сверхспирализации геномной ДНК. Сверхспирализация ДНК может создавать подходящие условия для работы регуляторных белков, которые включают или выключают экспрессию контролируемых генов и таким образом обеспечивают акклиматизацию цианобактериальных клеток к стрессовым условиям.

## **АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В ЛИСТЬЯХ КАРТОФЕЛЯ ПРИ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ, ИНДУЦИРОВАННОМ ГИПОТЕРМИЕЙ**

Синькевич М.С.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая, 35, 127276 Москва, тел: (499) 2318326, факс: (495) 9778018

E-mail: [sinkevich\\_m@mail.ru](mailto:sinkevich_m@mail.ru)

При гипотермии повреждения растений начинаются, прежде всего, с развития окислительного стресса, начальным этапом которого является усиление генерации активных форм кислорода (АФК), таких как супероксидный анион ( $O_2^-$ ) и перекись водорода ( $H_2O_2$ ). Противодействие этому осуществляется при помощи системы антиоксидантной защиты, состоящей из двух компонентов: ферментативного и низкомолекулярного. Основная роль в инактивации  $O_2^-$  принадлежит ферменту супероксид-дисмутазе (СОД), а разложение  $H_2O_2$  осуществляют каталаза (КАТ), а также гваякол (ГП) и аскорбат пероксидазы (АП). Для того, чтобы определить вклад каждого из упомянутых ферментов в конститутивную устойчивость листьев картофеля к гипотермии, мы определяли их активности до и после краткосрочного действия отрицательных температур, не сопровождавшихся образованием льда. Кроме того, была поставлена цель выявить роль сахаров как низкомолекулярных антиоксидантов, которая может проявляться в качестве альтернативного ферментам пути нейтрализации АФК.

Объектом исследования служили растения картофеля (*Solanum tuberosum* L. cv. Désirée), трансформированные геном дрожжевой

инвертазы с апопластной локализацией фермента (B33-*inv* растения), общее содержание сахаров у которых было на 20% выше, чем у нетрансформированного контроля (WT растения). Ранее в наших исследованиях было показано, что у растений, обогащенных сахарами, наблюдался пониженный уровень повреждений мембран, оцениваемый на основании интенсивности перекисного окисления липидов и выхода электролитов из клетки. Для индукции окислительного стресса листья 42-дневных WT и B33-*inv* растений картофеля, выращенных в факторостатных условиях при 22°C *in vitro* на среде МС, помещали в холодильную камеру с температурами -5°C и -7°C на короткие промежутки времени (15 и 30 мин).

В оптимальных для роста условиях активности СОД, КАТ, ГП и АП у WT и B33-*inv* растений картофеля практически не отличались.

В результате охлаждения активность СОД значительно снижалась у WT и оставалась практически неизменной у B33-*inv* растений. В то же время заметно (в два раза) увеличилась активность ГП, причем в большей степени она возрастала у B33-*inv* растений. В активности КАТ и АП существенных изменений не наблюдалось. Очевидно, что ферментативное противодействие в основном направлено на предотвращение накопления  $H_2O_2$ , с преобладающей ролью ГП, в то время как нейтрализация  $O_2^-$ , по всей видимости, осуществляется при помощи низкомолекулярной составляющей антиоксидантной системы, нейтрализующей короткоживущие радикалы альтернативно СОД. Поскольку участвовавшие в опыте генотипы отличались в первую очередь по содержанию сахаров, обладающих неспецифическими антиоксидантными свойствами, мы предполагаем их участие в защите растений от окислительного стресса при гипотермии.

## **САХАРА В СИСТЕМЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ ОТ ИНДУЦИРОВАННОГО ПАРАКВАТОМ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА**

Синькевич М.С., Нарайкина Н.В., Трунова Т.И.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая, 35, 127276 Москва, тел: (499) 2318326, факс: (495) 9778018

E-mail: [sinkevich\\_m@mail.ru](mailto:sinkevich_m@mail.ru), [narai@yandex.ru](mailto:narai@yandex.ru), [trunova@ippras.ru](mailto:trunova@ippras.ru)

При гипотермии у холодостойких, и особенно, теплолюбивых растений повреждения начинаются, прежде всего, с развития окислительного стресса, начальным этапом которого является усиление генерации супероксид-

аниона ( $O_2^-$ ), а конечным – накопление продуктов распада биополимеров, в частности, для липидов жирных кислот – малонового диальдегида (МДА). Противодействие повышенному уровню активных форм кислорода (АФК) осуществляется при помощи системы антиоксидантной защиты, состоящей из двух компонентов: ферментативного и низкомолекулярного.

В наших исследованиях было показано, что сахара обладают способностью перехватывать короткоживущие радикалы, выполняя тем самым, роль низкомолекулярных антиоксидантов. Чтобы подтвердить эти данные, в настоящей работе оценивалось образование  $O_2^-$  и накопление МДА у растений картофеля, обогащенных сахарами за счет введения гена инвертазы дрожжей, в сравнении с нетрансформированным контролем (WT растения).

Объектом исследования служили растения картофеля (*Solanum tuberosum* L. cv. Désirée) трансформированные вектором, несущим ген дрожжевой инвертазы (*inv*), находящийся под контролем промотора пататина В33 класса I и содержащий последовательность лидерного пептида ингибитора протеиназы II для обеспечения апопластной локализации фермента (В33-*inv* растения). Показано, что общее содержание сахаров у трансформантов было на 20% выше, чем у WT растений. Для индукции окислительного стресса листья 42-дневных WT и В33-*inv* растений картофеля, выращенных в факторостатных условиях фитотрона при 22°C *in vitro* на среде МС, обрабатывали раствором параквата в концентрации 1 мМ, содержащим 1% Tween 40, смачивая обе стороны листовой пластины, и помещали в темноту на 14 часов. Затем экспонировали в течение 6-ти часов на свету (100 моль квантов/м<sup>2</sup>·с) для стимуляции образования  $O_2^-$ .

В опытах без обработки паракватом, у В33-*inv* растений скорость генерации  $O_2^-$ , была выше, чем у WT растений, однако, МДА содержался, наоборот, в меньшей степени у В33-*inv* растений. После действия параквата происходило усиление скорости образования  $O_2^-$  более чем в два раза у обоих генотипов, а разница в содержании МДА между генотипами, в необработанных вариантах составлявшая 26%, увеличилась почти до 40%.

Полученные данные показали, что обогащенные сахарами В33-*inv* растения, по сравнению с WT растениями, отличались более высокой скоростью генерации  $O_2^-$  как до, так и после действия параквата. Однако при этом, В33-*inv* растения имели меньший уровень содержания МДА, что свидетельствует о более слабом у них перекисном окислении липидов. Таким образом, использованная модельная система позволила подтвердить гипотезу об участии сахаров в противодействии АФК в качестве неспецифических низкомолекулярных антиоксидантов.

## **СОДЕРЖАНИЕ ПИГМЕНТОВ ФОТОСИНТЕЗА И БЕЛКА В ЛИСТЬЯХ ГИНКГО ДВУЛОПАСТНОГО (GINKGO BILOBA L.) В УСЛОВИЯХ ИНТЕНСИВНОГО ВЫБРОСА ВЫХЛОПНЫХ ГАЗОВ АВТОТРАНСПОРТА В ГОРОДАХ.**

Скрипец Х.И.\*, Баранов В.И.\*, Гузь М.М.\*\* , Остудимов А.О.\*\*

\* Львовський національний університет ім. Івана Франка. вул. Грушевського 4, г. Львов, 79005, Україна, (032)2394373

\*\* Національний лесотехнічний університет України. ул. ген. Чупринки 103, г. Львов, 79005, Україна

E-mail: [biofr@franko.lviv.ua](mailto:biofr@franko.lviv.ua) (Баранову В.И.), [nv@forest.lviv.ua](mailto:nv@forest.lviv.ua)

Доминирующими видами загрязнения окружающей среды являются выбросы автотранспорта и промышленности. В условиях больших городов основным видом загрязнения являются выбросы автотранспорта. Многие виды деревьев, растущие в городах, уже не выдерживают воздействие многократно выросшего количества автомашин и поэтому проводится поиск новых более стойких видов, одним из которых является гинкго двулопастное. Гинкго двулопастное (*Ginkgo biloba*) – реликтовое дерево, единственный представитель класса гинкговых, которое дожило до наших дней. Растет до тысячи и больше лет, достигая высоты 40 метров и до 10 метров в диаметре. Двудомное растение, характеризуется как стойкое к антропогенным видам загрязнений, однако влияние выбросов автотранспорта на содержание пигментов фотосинтеза в доступной литературе мы не обнаружили, что и было целью исследования. Листья растений отбирались с женских и мужских деревьев в возрасте около 25-40 лет в Стрыйском парке г. Львова (расстояние 10 м от улицы с интенсивным транспортом) и в парке пгт. Дубляны, который считается экологически чистой зоной, а также на улицах городов и в ботанических садах Киева, Львова, Одесы, Ужгорода, Ялты, Каменец- Подольского. Содержание хлорофиллов в листьях деревьев гинкго в г. Львове было больше у женских экземпляров, чем у мужских, как и в среднем по выборке из всех проверенных городов сумма хлорофиллов была больше у женских экземпляров. Сума каротиноидов менялась незначительно. Содержание белка у всех образцов было большим у женских особей, чем у мужских. В условиях г. Львова с интенсивным движением автомашин наблюдалось снижение суммы хлорофиллов у женских и мужских экземпляров деревьев, по сравнению с экологически чистой зоной и в большей мере за счет снижения хлорофилла А.

Большее снижение содержания хлорофиллов при воздействии выбросов выхлопных газов автотранспорта наблюдалось у женских деревьев, что

позволяет рекомендовать для озеленения городов мужские экземпляры гинкго, как более стойкие к этому виду загрязнений. Меньшее снижение содержания пигментов у мужских экземпляров является положительным признаком, поскольку женские особи не рекомендуется высаживать в городах, так как опадающие плоды при загнивании издают неприятный запах.

## **ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЯ СИНТЕЗА ЗЕЛЕННЫХ ПИГМЕНТОВ У НЕКОТОРЫХ ВИДОВ СЕМЕЙСТВА АМАРИЛЛИСОВЫЕ, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ НА ЧЕРНОМОРСКОМ ПОБЕРЕЖЬЕ КАВКАЗА**

Слепченко Н.А.

ГНУ ВНИИ цветоводства и субтропических культур Россельхозакадемии, 354002, Сочи, ул. Я. Фабрициуса, 2/28, тел.: (8622)964318  
E-mail: *subplod@mail.ru*

Одним из важнейших показателей адаптивного потенциала растений в лимитирующих условиях является эффективность работы фотосинтетического аппарата, обусловленная, в том числе, и особенностями пигментного аппарата. Нами была выявлена динамика изменения синтеза зеленых пигментов у растений подснежника Воронова и панкрация морского, а у белоцветника летнего прослежено влияние условий произрастания на динамику накопления хлорофиллов.

Содержание суммы хлорофиллов у подснежника Воронова в среднем составляет 13,092 мг/л; в период со второй декады февраля по вторую декаду марта происходило незначительное накопление зеленых пигментов, затем наблюдалось снижение их количества в 1,4 раза. У панкрация морского иной цикл вегетации и динамика накопления хлорофиллов отличается: наибольшее количество пигментов приходится на май-июнь, составляя в среднем 7,45 мг/л, а к началу июля происходит резкое снижение синтеза хлорофиллов. Такие изменения пигментов связаны, по-видимому, с особенностями биологии данного растения. Основным фотосинтезирующим пигментом является хлорофилл а. У подснежника Воронова количество хлорофилла а составляет в среднем 7,39 мг/л, у белоцветника летнего – 6,24 и у панкрация морского – 4,52 мг/л. Содержание хлорофилла b свидетельствует об уровне приспособленности растений к низкой освещенности. По данному показателю наиболее теневыносливым является подснежник Воронова (5,69 мг/л, что в 2 раза выше, чем у панкрация морского). Важным является не столько содержание того или иного пигмента, сколько их соотношение, так как по соотношению a/b можно судить о преобладании в растении I или II фотосистемы. Во всех

изученных нами растениях соотношение а/б находится в пределах от 1,08 (подснежник Воронова) до 1,97 (панкраций морской). Кроме того, отношение хлорофиллов а/б является показателем устойчивости пигментной системы к водному дефициту. Более устойчивым является панкраций морской. У белоцветника летнего прослеживается динамика изменения синтеза хлорофилла в зависимости от условий возделывания. В сухих условиях сумма хлорофиллов составляет в среднем 11,95 мг/л, во влажных – 10,54. При этом отмечается усиление синтеза зеленых пигментов с марта по апрель и незначительное снижение их количеств в мае. Во влажных условиях в марте в течение двух недель происходит значительное уменьшение содержания суммы хлорофиллов, после чего наблюдается некоторая стабилизация (количество хлорофиллов в среднем составляет 10,78 мг/л). К середине мая отмечено еще одно падение – до 6,98 мг/л. В итоге, содержание зеленых пигментов в этом варианте к маю снижается почти в 2 раза. Стабильность синтеза зеленых пигментов свидетельствует о лучшей приспособленности растений к условиям выращивания. В нашем случае большая стабильность в синтезе хлорофиллов наблюдается у растений белоцветника летнего сухого варианта, что свидетельствует о более оптимальных для культуры условиях выращивания (изменение содержания пигментов составляет всего 9% по сравнению с исходным).

## **РЕТАРДАНТ ХЛОРХОЛИНХЛОРИД КАК РЕГУЛЯТОР УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ *Fagopyrum tataricum* G. ПРИ ОКСИДНОМ СТРЕССЕ**

Смирнов А. Е., Косян А. М., Косык О. И.

Киевский национальный университет им. Т. Шевченко, кафедра физиологии и экологии растений; ул. Владимирская, 64, Киев, 01033, Украина  
E-mail: [mcd\\_smirnov@mail.ru](mailto:mcd_smirnov@mail.ru) (Смирнову А. Е.)

Хлорхолинхлорид (ССС) – один из наиболее характерных представителей группы ретардантов. СССР широко используется в растениеводстве, защищает растения от негативного действия абиотических стрессоров, таких как пестициды. На сегодня, в категории техногенных стрессоров пестициды занимают лидирующую позицию.

Стрессовая реакция растения на пестициды связана с модификацией его физиолого-биохимических процессов – снижение фотосинтетической активности, которое приводит к ослаблению ростовых процессов.

Фотосинтетический аппарат растения – одна из наиболее чувствительных клеточных систем. Сформировавшийся хлоропласт является динамической

системой, которая чутко реагирует на любой стресс-фактор. Поэтому актуальным остается вопрос о повышении устойчивости фотосистем при воздействии стрессоров химической природы.

ССС в определенных концентрациях может стать индуктором защитных систем растительного организма при оксидном стрессе. Обработка растений ретардантом приводит к увеличению числа фотосинтетических и УФ-поглощающих пигментов, увеличению активности антиоксидантных ферментов, образованию низкомолекулярных антиоксидантных соединений.

Целью работы было определение концентрации ССС, которая вызывала оптимальные физиолого-биохимические изменения в растениях гречки татарской (*Fagopyrum tataricum* G.) – повышение содержания хлорофиллов, каротиноидов и антиоксиданта – флавоноида рутина.

В ходе эксперимента было установлено, что ССС в концентрациях 0,25% и 4% вызывает увеличение количества хлорофиллов и каротиноидов. Причем, наиболее выраженное действие оказывает ретардант в концентрации 0,25%. Полученные данные свидетельствуют про значительное увеличение содержания хлорофилла *b* и каротиноидов – пигментов, защищающих активный центр фотосистемы от фотоокисления.

Обработка ретардантом в концентрации 0,25% способствовала количественному увеличению содержания флавоноида рутина. ССС в концентрации 4% произвел противоположный эффект.

Таким образом, хлорхолинхлорид в концентрации 0,25% является индуктором, который повышает стресс-защитный и фитоантиоксидантный потенциал растений *Fagopyrum tataricum*, увеличивая содержание пластидных пигментов и низкомолекулярного антиоксиданта – рутина. Обработка этим ретардантом в концентрации 0,25% повышает стойкость растений в условиях оксидного стресса.

## **БИОИНДИКАЦИЯ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПОЧВЫ В МЕГАПОЛИСЕ**

Смирнова В.С.

Ленинградский Государственный Университет им. А.С. Пушкина; 196605  
Санкт-Петербург, Петербургское ш., 10, тел.: (812)4659073

E-mail: [biolgu@mail.ru](mailto:biolgu@mail.ru)

Загрязнение окружающей среды распространено, особенно в мегаполисах. «Поставщиками» загрязняющих веществ является транспорт и нефтепродукты. Загрязнение происходит как атмосферы,



поверхностных и грунтовых вод, так и почвенного покрова. Это приводит к ухудшению здоровья горожан и условий произрастания растений. При загрязнении почвы происходят глубокие и часто необратимые изменения морфологических, физических, физико-химических свойств, а иногда существенная перестройка всего почвенного профиля. Это приводит к ухудшению ее плодородия, что сказывается на снижении темпов роста и развития растений, особенно на начальных этапах, задерживается формирование генеративных органов, ухудшаются их декоративные свойства, сроки созревания, урожайность и качество продукции. У многолетних растений существенно сокращается продолжительность жизни.

При проведении исследований использовали методы количественного учета живых микроорганизмов на твердых средах (метод Коха); методику определения выбросов вредных (загрязняющих) веществ в атмосферный воздух от автотранспортных потоков; определение общего содержания нефтепродуктов в почве методом газовой хроматографии; определение качественного состава нефтепродуктов в почве методом хромато-масс-спектрометрии и проведение теста на фитотоксичность. Методом биоиндикации, с использованием кресс-салата в качестве тест-объекта, показано существенное снижение числа проросших семян и их темпов прорастания. На сильно загрязненных почвах наблюдались их морфологические изменения: искривление проростков, уменьшение длины и количества корней, уменьшение массы проростка. Такие нарушения требуют разработки различных приемов, позволяющих восстановлению плодородия почвы.

Самоочищение в природе длится десятилетиями, для интенсификации процессов восстановления почвы необходимы быстрые и эффективные технологические решения. Одним из таких препаратов является «Родер», разработанный Всесоюзным научно-исследовательским институтом генетики и селекции промышленных микроорганизмов и Северным государственным научно-исследовательским и проектно-конструкторским геологическим центром. Он рекомендован для очистки воды и почвы от нефтяных загрязнений с использованием концентрата живых и лиофильно высушенных высокоактивных клеток бактерий рода *Rhodococcus*, способных к окислению нефти.

Анализ результатов эксперимента показал, что при использовании биопрепарата «Родер» количество микроорганизмов увеличивается как в контрольных пробах, так и в опытных. В загрязненных образцах почвы количество живых микроорганизмов было значительно выше, чем в контрольных. Кроме того внесение препарата приводит к снижению эффекта торможения ингибирования роста корней проростков более,

чем на 20%. Это связано со стимуляцией почвенной микробиоты за счет деструктивной активности препарата к углеводородным субстратам и свидетельствует об ускорении процесса биодegradации различных загрязнителей в почве.

## **ОСТАТОЧНЫЕ ХЛОРОФИЛЛЫ – СТРЕССОРНЫЙ ФАКТОР ПРИ ХРАНЕНИИ СЕМЯН**

Смоликова Г.Н.

Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф.Купревича НАН Беларуси;  
ул. Академическая 27, 220072 Минск, Беларусь, факс: (37529)2841853  
Санкт-Петербургский государственный университет; Университетская наб. 7/9,  
199034 Санкт-Петербург, тел.: (812)3289695, факс: (812)3289703

E-mail: [galina.smolikova@gmail.com](mailto:galina.smolikova@gmail.com)

При формировании семян на материнском растении в них присутствуют функционально активные хлоропласты, которые необходимы для нормального развития проростков и синтеза запасных питательных веществ. На поздних стадиях эмбриогенеза гранальная структура хлоропластов нарушается, в результате чего они превращаются в пропластиды (эопласты), из которых затем формируются амило- и элайопласты (Ruppel et al., 2007). При этом хлорофиллы (Хл) не деградируют полностью и присутствуют в эопластах семян в остаточных количествах. Это явление было названо хлорофиллоносностью (Яковлев, Жукова и др., 1973). Согласно нашим данным, в физиологически зрелых семенах ряда видов и сортов сельскохозяйственных культур имелись Хл а и b в соотношении от 0,5 до 2,7. Больше всего Хл было отмечено в семенах моркови (20-52 мкг/г абс.сух.в-ва), далее следовали вика (10-12 мкг/г), галега (4-11 мкг/г), рапс (3-6 мкг/г), люпин (1-4 мкг/г), кукуруза (0,5-2 мкг/г) и соя (0,3 мкг/г). Содержались Хл, в основном, в зародышах и семядолях, а также в минорных количествах в семенной оболочке. Наблюдалась сильная вариабельность уровня Хл внутри одной партии семян. Например, у капусты этот показатель варьировал от 2,3 до 60,7 мкг/г. При этом по мере уменьшения суммарного содержания Хл снижалось содержание ксантофиллов и абсцисовой кислоты, а также отношение  $\text{Хл } b / \text{Хл } a$  и каротины / ксантофиллы. Несмотря на то, что наличие Хл в семенах отмечается уже давно (Иоффе, 1952; Кантор, 1955; Годнев и др., 1960; Жукова, 1965; Яковлев и др., 1973), вопрос о биологической сущности этого явления остается открытым. Эволюционно накопление остаточных хлорофиллов может быть обусловлено необходимостью его

быстрой мобилизации при прорастании семян, когда происходит переход с гетеротрофного на автотрофный тип питания. Однако в ряде работ показано, что присутствие высоких количеств Хл в семенах отрицательно коррелирует с их всхожестью (Jalink et al., 1998). Нами установлено, что семена с более высоким содержанием Хл характеризовались более высокой чувствительностью к абиотическим стрессорам при хранении, которую оценивали методом ускоренного старения (УС). УС представляет собой кратковременную инкубацию семян при повышенных влажности и температуре воздуха с последующей оценкой показателей скорости прорастания и всхожести. Показано, что снижение устойчивости семян с повышенным содержанием остаточных хлорофиллов связано с нарушением целостности мембран и семенных покровов, неэффективной работой антиоксидантной системы, нарушением процесса спиртового брожения. Вероятно, присутствующие в семенах Хл усиливают окислительный стресс при неблагоприятных условиях хранения семян. В роли веществ, защищающих семена от окислительного стресса, рассматриваются липофильные антиоксиданты – ксантофиллы и токоферолы.

## **ИЗМЕНЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ОВОЩНЫХ КУЛЬТУР ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ АССОЦИАТИВНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ**

Соколова М.Г., Белоголова Г.А.\*, Акимова Г.П.

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН; ул. Лермонтова, 132, 664033 Иркутск-33, тел. (3952)428256, факс: (3952)510754

\* Институт геохимии им. А.П. Виноградова СО РАН; ул. Фаворского 1а, 664033 Иркутск-33, тел. (3952) 510677, факс (3952) 427050

E-mail: [SokolovaMG@sifibr.irk.ru](mailto:SokolovaMG@sifibr.irk.ru) (Соколовой М. Г.); [gabel@igc.irk.ru](mailto:gabel@igc.irk.ru)

Активное антропогенное воздействия приводит к существенному загрязнению почвы тяжелыми металлами (ТМ). Существует предположение, что микроорганизмы за счет бактериальной системы ферментов осуществляют трансформацию ТМ в почве в нетоксичные формы. С целью восстановления почв, стимуляции роста растений и повышения их устойчивости к различным стрессовым факторам в агропроизводстве применяют микробиологические препараты. Проведены исследования влияния бактериальных биопрепаратов – Азотобактерина (*Azotobacter chroococcum*), Фосфобактерина (*Bacillus megaterium*) и Кремнебактерина (*Bacillus mucilaginosus*) - на основе живых почвенных бактерий на поведение элементов питания растений (К, Р, Са,

Mg, Na, S, Si) и ТМ (Fe, Ni, Cr, Zn, Cd, Pb, Cu, Hg) в системе «почва–растение». Рассмотрены закономерности бионакопления химических элементов из почвы на примере корнеплодов (картофель, морковь, свекла). Показано, что ассоциативные бактерии способствуют накоплению в растениях биофильных элементов питания (K, Na, Ca, Mg, Zn) и некоторых ТМ группы железа Fe, Ni, Cr. Бионакопление элементов в культурных растениях имеет избирательный характер и зависит от вида растения. Химические элементы концентрируются преимущественно в верхнем слое овощных культур, и содержание их не превышает уровней ПДК. Исследование особенностей биоаккумуляции элементов – токсикантов и элементов – питания в пищевых растениях при использовании ризосферных бактерий может иметь большое значение при выборе сельскохозяйственных культур, выращиваемых на загрязненных почвах. Отмечается, что водорастворимые и аморфные соединения кремния детоксицируют тяжелые металлы, образуя с ними труднорастворимые соединения, стимулируют азотное питание растений. Важна физиологическая активность кремния по усилению поступления фосфат-ионов в растения, увеличение количества обменных форм калия и других биофильных элементов за счет разрушения бактериями алюмосиликатов и фосфоритов почвы. Исследования показали, что ассоциативные микроорганизмы значительно влияют на миграцию химических элементов в системе «почва – растение». Бактерии *Bacillus* фосфобактерина и силикатные бактерии кремнебактерина, используя специфические ферменты, увеличивают количество подвижных форм элементов в почве и, наряду с азотом, который поставляют *Azotobacter*, способствуют повышению плодородия почвы, а таким образом, улучшению роста и развития растений.

Исследования выполнены при финансовой поддержке гранта РФФИ № 09-05-00710-а.

## **ИЗУЧЕНИЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ F-АКТИНА В ЛИСТЬЯХ *Arabidopsis thaliana* Heynh. ПРИ ХОЛОДОВОМ СТРЕССЕ И ТЕМНОТЕ**

Соколова М.К., Соколов О.И.

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН;  
пр. Энтузиастов 13, 410015 Саратов, тел.: (8452)970494  
E-mail: sokolov@ibppm.sgu.ru

Растения в естественных условиях часто подвергаются воздействию неблагоприятных факторов среды, одним из которых является низкая положительная температура. Большое значение имеет изучение

способности растения к защите или адаптации к такому стрессовому воздействию.

Семена *Arabidopsis thaliana* (Heynh.) проращивали при температуре 22°C. Затем чашки Петри с проростками оставляли в темноте при той же температуре, а для изучения холодового стресса при температуре 4°C. Для изучения организации актинового цитоскелета использовали лазерный конфокальный микроскоп Leica TCS SP5 (Германия). Конфокальная микроскопия позволяет получать оптические срезы на достаточно большой глубине тканей, которая зависит от относительной «прозрачности» в выбранном спектральном диапазоне и мощности флуоресцентного сигнала. Для такого рода постановки экспериментов листья арабидопсиса оказались весьма подходящим объектом, позволившим получать оптические срезы практически по всей глубине листа. Растения арабидопсиса, выращенные при 4°C или в темноте, отстали в росте и развитии от контрольных растений, которые успели за это время сформировать розетку и полноценную корневую систему. Поэтому для корректности сравнения в контрольном варианте нами были выбраны семядольные листья растений. В контроле, помимо мощного сигнала автофлуоресценции хлорофилла, имелся и достаточно выраженный сигнал от зонда «Alexa Fluor 546 phalloidin» свидетельствующий о наличии F-актина в клетках по всей толщине листа (в трехмерной проекции). В семядольных листьях растений, выращенных в нормальных и в стрессовых условиях, наблюдалось разное количество F-актина. Несмотря на то, что мы говорим об интенсивности флуоресценции фаллоидинового маркера, который избирательно связывается только с филаментами актина и его олигомерами, мы можем утверждать и об относительном количестве F-актина. За 100% была принята интенсивность флуоресценции F-актина в контрольных листьях. После 14-и дневного холодового стресса в листьях уровень F-актина снизился до 80%, а в темноте до 30% от контроля. При холодовом стрессе относительное количество хлорофилла увеличилось до 135%. В темноте, как и следовало ожидать, количество хлорофилла снизилось до 7,5%. Таким образом, при 14-и дневном холодовом стрессе в семядольных листьях растений арабидопсиса количество филаментного актина снижается на 20%, а в темноте на 70%. Фотосинтетическая функция сведена к минимуму рост растений происходит за счёт растяжения. Как видно, актиновая система «используется» только на 30%. Основываясь на данных литературы, следует допустить, что при 14-и дневном холодовом стрессе идёт адаптация растений, и зарегистрированное нами количество F-актина может быть связано не только с его разборкой, но и с биосинтезом *de novo*. Также за процесс адаптации говорит и то, что повышается интенсивность автофлуоресценции хлорофилла, ведь при холодовом стрессе хлоропласты повреждаются наиболее сильно.

Работа поддержана грантом РФФИ 08-04-01617-а.

## ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА БОРОГУМ В КОМБИНАЦИИ С СИГНАЛЬНЫМИ МОЛЕКУЛАМИ НА УСТОЙЧИВОСТЬ КАРТОФЕЛЯ К ФИТОФТОРОЗУ

Сорокань А.В., Нужная Т.В., Абизгильдина Р.Р.

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН; пр. Октября, 71, 450054 Уфа, тел.: (374)235-60-88, факс: (347)235-61-00

E-mail: [phyto@anrb.ru](mailto:phyto@anrb.ru)

Одной из важнейших проблем современного сельского хозяйства является поиск безопасных и эффективных методов повышения устойчивости растений к биотическим стрессорам. Фирмой БашИнком был разработан препарат Борогум - антистрессовое и ростоускоряющее, иммуностимулирующее, борорганическое удобрение, содержащий соли гуминовых кислот природного происхождения (действующие вещества – гуминовые кислоты 3%, кислота борная 7%). Ранее было показано, что салициловая (СК) и жасмоновая (ЖК) кислоты, а так же олигомеры хитина (ХОС) способствуют индукции устойчивости и повышению продуктивности растений. Поэтому задачей исследования было определение влияния препарата Борогум его комбинаций с СК ( $10^{-5}$  и  $10^{-6}$  М), ЖК ( $10^{-6}$  и  $10^{-7}$  М) и ХОС ( $10^{-7}$  и  $10^{-6}$  М) на устойчивость картофеля против возбудителя фитофтороза *Phytophthora infestans* с целью подбора наиболее эффективного их сочетания. Для анализа использовали растения картофеля (сорт Red Scarlett), выращенные на почве из фрагментов клубней проростками. Устойчивость определяли по развитию симптомов фитофтороза на отделенных листьях, помещенных на 0,04 % р-р бензимидазола. Инфицировали суспензией спор *P. infestans* на 5 и 10 сутки после обработки ( $10^5$  зооспор/мл). Концентрацию  $H_2O_2$  измеряли с использованием 0.009% ксиленолового оранжевого в 1.82 % растворе сорбита и 0.074% соли Мора в 5.81% (1:100), к 500 мкл реагента добавляли 50 мкл супернатанта образца, инкубировали 45 мин, измеряли оптическую плотность при 560 нм. На 3 сутки после инфицирования на листьях контрольных растений было поражено более 50% площади листовых пластинок. Препарат Борогум увеличивал устойчивость растений к фитофторозу, как на 5, так и на 10 сут, что выражалось в снижении размеров инфекционных поражений (30% площади листьев). На 5 сутки большей эффективностью обладали смеси Борогума с СК  $10^{-6}$  М, ЖК  $10^{-7}$  М и ХОС  $10^{-6}$  М (поражены 10-20% площади листьев). Следует обратить внимание, что в вариантах с обработкой клубней препаратом Борогум в значительной степени увеличивалось содержание  $H_2O_2$ , чего не наблюдалось в растениях, обработанных смесью Борогума с СК и ЖК. Таким образом, если в варианте с чистым препаратом Борогум

растения подвергались окислительному стрессу, то в смеси этого препарата с СК и ЖК этого не происходило и в этих условиях в растениях стимуляция устойчивости сопровождалась отсутствием стрессового воздействия.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов Минобрнауки «Научные научно-педагогические кадры инновационной России» П339 и АВЦП «Развитие научного потенциала высшей школы» №2.1.1./5676.

## **ИЗМЕНЕНИЯ ПАРАМЕТРОВ ИНДУЦИРОВАННОЙ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА В ХВОЕ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ В ОТВЕТ НА СОКРАЩЕНИЕ ФОТОПЕРИОДА И СНИЖЕНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ**

Софронова В.Е.\*, Сайто Х.\*\*, Максимов Т.Х.\*, Суворова Г.Г.\*\*\*

\* Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН; пр. Ленина, 41, 677980 Якутск, тел.: (411)2335690, факс: (411)2335812

\*\* Hokkaido University, North 9, West 9, Kitaku, Sapporo, 060-8589, Japan, Tel. +81-11-706-2523, Fax +81-11-706-2531

\*\*\* Сибирский Институт физиологии и биохимии растений СО РАН; ул. Лермонтова, 132, 664033 Иркутск-33, тел.: (3952)460676, факс: (3952)510754

E-mail: vse07\_53@mail.ru (Софроновой В.Е.)

Исследования проведены с 23 сентября по 2 ноября 2009 г. в экспериментальном насаждении хвойных пород СИФИБР СО РАН (52°21' с.ш., 104°11' в.д.). Возраст деревьев 25 лет. Светлое время суток в Прибайкалье в период исследований сокращалось с 12 ч 10 мин до 9 ч 32 мин (22 июня 16 ч 47 мин). Среднесуточная температура с третьей декады сентября до середины октября колебалась в пределах  $6,1 \pm 1,8^\circ\text{C}$ , с середины октября по 23 октября происходило ее снижение до  $0,2 \pm 1,4^\circ\text{C}$  со слабыми ночными заморозками. В последнюю неделю октября наблюдалось резкое похолодание до  $-7,0 \pm 3,0^\circ\text{C}$  с ночными заморозками до  $-9 - -16^\circ\text{C}$ . Во время проведенных исследований преобладали солнечные дни с переменной облачностью. Максимальная освещенность в солнечные дни снизилась от 1000-1100 мкмоль/(м<sup>2</sup>·с) в конце сентября до 450-500 мкмоль/(м<sup>2</sup>·с) к началу ноября, температура почвы с  $+8,7$  до  $+1,6^\circ\text{C}$  на глубине 15 см. Измерения параметров флуоресценции (Фл) хлорофилла (Хл):  $F_v/F_m$ ,  $F_o$ ,  $F_m'$ ,  $\Phi_{PSII}$ , ОСТЭ в хвое первого и второго года проводили в полевых и лабораторных условиях. Определены параметры быстрых световых кривых в зависимости от температурно-световых условий произрастания растений. Для анализа развития рН- зависимого qE компонента NPQ использовали индукционные кривые. Наблюдали

динамику обратимого и необратимого снижения  $F_v/F_m$ ,  $F_o'$ ,  $F_m$ . Задолго до наступления заморозков сосна обыкновенная в условиях Прибайкалья снижает число фотосинтетических единиц (ФСЕ) в ответ на сокращение светлого времени суток. Однако оставшиеся функционально активные комплексы ФСII сохраняли высокие значения  $F_v/F_m$  0,76-0,80. Ранняя стадия фотоингибирования медленно иницируется укорочением светового дня и мало зависит от колебаний температуры пока среднесуточные и ночные температуры превышали +5°C. В этот период вклады  $qE$  компонента NPQ и тушения Фл Хл в РЦ ФСII в тепловую диссипацию избыточного возбуждения Хл значительны. При температурах +2 – -2°C возрастает роль тушения в антенне за счет обратимого тушения  $F_o'$ ,  $F_m$ . Необратимое фотоингибирование ФСII происходило при наступлении отрицательных температур воздуха -7,0 ± 3,0°C. Обсуждается вклад различных механизмов нефотохимического тушения Фл Хл в краткосрочной и долговременной адаптации ФСII.

## **ФОТОЗАЩИТНЫЙ КЕТОКАРОТИНОИД РОДОКСАНТИН УЧАСТВУЕТ В ДОЛГОВРЕМЕННОЙ АДАПТАЦИИ ЭФЕДРЫ ОДНОСЕМЯННОЙ (*Ephedra monosperma* Gmelin ex C. A. Meyer) К ХОЛОДНОМУ КЛИМАТУ**

Софронова В.Е., Семенова В.В.

Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН; пр. Ленина, 41, 677980 Якутск, тел.: (411)2335690, факс: (411)2335812

E-mail: vse07\_53@mail.ru (Софроновой В.Е.)

Механизмы, снижающие количество света, достигающего РЦ ФСА, играют важную роль в адаптации растений к абиотическим стрессовым факторам среды. Одним из общих защитных механизмов от избыточного света является накопление фотозащитных пигментов, которые выполняют функцию световых фильтров. В *Ephedra monosperma* нами обнаружен вторичный ретрокаротиноид родоксантин (Rh<sub>d</sub>), придающий побегам растения красно-бурую окраску. *Ephedra monosperma* вечнозеленый кустарничек до 20-25 см высоты. Светолюбивое и засухоустойчивое растение. В Якутии произрастает по остепненным участкам южных, центральных и северо-восточных районов. Особенность растения – отсутствие зеленых листьев. Функцию ассимиляции несут побеги. Исследования проведены в 2008-2010 гг. в Ботаническом саду ИБПК СО РАН (62°15' с.ш., 129°37' в.д.). В опытах использованы ассимилирующие



побеги IV–VI порядка зрелых генеративных растений. Изучена динамика содержания Rhd с сопоставлением фаз развития растения в годовом цикле роста и развития. В период максимального развития растения Rhd отсутствовал в побегах, тогда как при холодовой акклимации его количество в верхних ассимилирующих побегах увеличивалось. Однако нижние побеги под покровом других побегов имели зеленый цвет. Максимальное содержание Rhd (52,9–61,3 мкг/г сух. массы, 9,8–10,7% от суммы каротиноидов) достигалось к окончанию первой фазы закаливания. В зимние месяцы его содержание в побегах практически оставалось на одном уровне. В весенний период, несмотря на начало процессов отрастания боковых побегов и бутонизации содержание Rhd в ассимилирующих побегах было значительным. В это время отрастающие молодые побеги окрашены в красноватый цвет. И только в начале июня было обнаружено следовое количество Rhd. Анатомическое исследование срезов тканей зимних побегов позволило установить, что клетки с Rhd располагаются в 2-3 ряда в паренхиме под эпидермой, убывая и исчезая в теневой части среза побега. Данные свидетельствуют, что Rhd, который накапливается в побегах *Ephedra monosperma*, соответствует критериям пигментов, выполняющим фотозащитные функции. Он может образовывать эффективные ловушки ФАР в диапазоне 450–600 нм. При ослаблении интенсивности фотосинтеза в осенний период избыток солнечной радиации индуцирует синтез данного соединения с солнечной стороны побега. Весной в условиях фотоингибирования, он продолжает присутствовать в ассимилирующих тканях побега, поддерживая начальные фазы развития и роста. По данным флуоресценции хлорофилла, повышение содержания Rhd сопровождается выраженным повышением устойчивости растения к фотоингибированию в весенний и осенний периоды.

## **ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННОГО ПРОЛИНА НА АКТИВНОСТЬ СУПЕРОКСИД-ДИСМУТАЗЫ У РАСТЕНИЙ *Thellungiella halophila* Mey.**

Сошинкова Т.Н., Радюкина Н.Л.

Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева РАН; ул. Ботаническая, 35, 127727 Москва, тел.: (499)2318359, факс: (495)9778018

E-mail: [soshinkova@gmail.com](mailto:soshinkova@gmail.com)

При изучении механизмов адаптации растений к абиотическим факторам среды особый интерес вызывает роль иминокислоты пролина.

Это связано с тем, что содержание свободного пролина в растениях многократно возрастает в ответ на действие различных стрессорных факторов, в том числе, засоления, УФ-облучения, тяжелых металлов и т.д. Известно, что пролин может выступать в роли совместимого осмолита, источника азота и углерода, «ловушки» активных форм кислорода и др. В функционировании антиоксидантной защитной системы в условиях действия абиотических стрессоров принимают участие как антиоксидантные ферменты (супероксиддисмутазы, каталазы, пероксидазы и др.), так и низкомолекулярные вещества – пролин, аскорбиновая кислота, фенолы, токоферол. Взаиморегуляция этих двух главных составляющих защитной системы изучена мало. Известно, что повышение содержания пролина или веществ фенольной природы является часто более предпочтительным ответом на развитие окислительного стресса, в то время как активация, например, СОД наблюдается не у всех растений. В связи с этим, целью данной работы была проверка предположения, что внутриклеточное содержание пролина в нормальных условиях культивирования у растений *Th. halophila* строго регулируется и его повышение вызывает изменения в активности СОД. Растения *Th. halophila* (возраст 7 недель) помещали на питательные среды с концентрацией экзогенного пролина в диапазоне от 0,2 до 10 мМ. Растения фиксировали через 1, 6, 12, 24, 48 ч, измеряли содержание пролина, активность СОД, и пролиндегидрогеназы (ПДГ). Эндогенный уровень пролина повышался при всех использованных концентрациях экзогенного пролина в среде, но максимальное его содержание в листьях было зафиксировано через 12 ч на среде с 2мМ экзогенного пролина, при этом в корнях его содержание было минимальным. Возможно, накопление пролина в листьях за короткий срок связано с его быстрым транспортом по растению. Активность ПДГ, ключевого фермента катаболизма пролина, увеличивалась также через 12 ч, а затем быстро падала. Этот факт свидетельствует о необходимости поддержания оптимального уровня пролина, в котором важная роль принадлежит ПДГ. Изменения активности СОД в листьях при различных концентрациях экзогенного пролина не наблюдали. В корнях увеличение активности СОД происходило в первые часы после обработки пролином при всех используемых концентрациях, после 24 ч активность СОД заметно уменьшалась. Возрастание активности СОД в ответ на повышение содержания эндогенного пролина свидетельствует о негативном действии высокого содержания пролина на растение и его возможных прооксидантных свойств в нормальных условиях культивирования.

Работа выполнена при поддержке Программы Президиума РАН “Молекулярная и клеточная биология” и гранта РФФИ 10-04-90417-Укр\_а.

## ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА *Dhn7* В ПРОРОСТКАХ ЯЧМЕНЯ В УСЛОВИЯХ ПРОГРЕССИРУЮЩЕЙ ПОЧВЕННОЙ ЗАСУХИ

Спивак Е.А.

ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси»,  
ул. Академическая, 27, 220072 г. Минск, Беларусь, тел.: (37529)8643414,  
факс: (37517)2842359

E-mail: [spivak\\_e@inbox.ru](mailto:spivak_e@inbox.ru)

Одной из неспецифических реакций растительной клетки на действие стрессовых факторов – засухи, низких температур, засоления, является потеря воды. Важную роль в защите клетки от повреждений, вызванных обезвоживанием, играют дегидрины. Дегидрины – это многочисленная группа водорастворимых белков, функции которых в растении связаны с поддержанием гидратированного состояния цитоплазмы, активной конформации ферментов и структурной целостности мембран. В настоящее время обсуждаются свойства дегидринов как антиоксидантов. В работе исследовали уровень экспрессии дегидрина ячменя, кодируемого геном *Dhn7*, при прогрессирующей почвенной засухе. В опытах использовали зеленые проростки ячменя (*Hordeum vulgare* L.) сортов Гонар и Бровар, отличающихся устойчивостью к дефициту влаги в почве. Проростки выращивали в почве. Опытные растения не поливали с момента посадки, контрольные растения поливали постоянно. Пробы для анализа отбирали через 7, 10, 13, 16 и 19 суток с момента посадки. Уровень экспрессии гена *Dhn7* определяли по количеству ПЦР-продукта. ПЦР-анализ проводили с использованием кДНК, синтезированной на матрице РНК, выделенной из контрольных и опытных растений. Анализ показал, что в контрольных проростках ячменя исследуемых сортов ПЦР-продукт гена *Dhn7* не обнаруживался. Не регистрировался он и в опытных проростках ячменя сорта Гонар на 7-13 сутки после посадки. Экспрессия гена *Dhn7* впервые обнаруживалась у 16-дневных проростков, у которых содержание воды в листьях снижалось до 80%. Количество ПЦР-продукта гена *Dhn7* возрастало по мере увеличения интенсивности стрессового воздействия. Так, у 19-дневных проростков ячменя уровень экспрессии гена *Dhn7* был на 17% выше, чем у 16-дневных, при этом относительное содержание воды в листьях к 19-м суткам снижалось на 6% по сравнению с 16-дневными растениями. Сравнительный анализ уровней экспрессии гена *Dhn7* в сортах ячменя Гонар и Бровар при прогрессирующей почвенной засухе показал, что в менее устойчивом сорте Гонар накопление ПЦР-продукта гена *Dhn7* происходило на более ранних этапах действия стрессового фактора. В более устойчивом к засухе сорте Бровар экспрессия гена *Dhn7* наблюдалась только

в 19-дневных проростках, когда относительное содержание воды в листьях снижалось до 70%. Указанные выше сорта в стрессовых условиях отличались скоростью потери воды листьями. Так, в течение первых 16-ти суток действия стрессового фактора относительное содержание влаги в проростках ячменя сорта Бровар снижалось до 85%, а в проростках ячменя сорта Гонар – до 80%, тогда как к 19-м суткам эксперимента относительное содержание влаги в обоих сортах составляло уже 70%. Полученные данные позволяют предположить, что уровень экспрессии гена *Dhn7* в условиях засухи определяется степенью оводненности тканей проростков.

## **ПРОЛИН ЗАЩИЩАЕТ РАСТЕНИЯ *Atropa belladonna* L. ОТ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ СОЛЕЙ НИКЕЛЯ**

Стеценко Л.А., Ракитин В.Ю., Шевякова Н.И.

Учреждение Российской академии наук Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая, 35, 127276 Москва, тел.: (499)2318355, факс: (495)9778018

E-mail: [larstet@mail.ru](mailto:larstet@mail.ru) (Стеценко Л.А.)

Растения *Atropa belladonna* L. выращивали в водной культуре и в возрасте 8 нед. в питательную среду однократно вносили  $\text{NiCl}_2$  до конечных концентраций 0 (контроль), 50, 100, 150, 200, 250 и 300 мкМ. Через 4 суток действия хлористого никеля в растениях измеряли содержание воды, анализировали содержание пролина, Ni, Fe, свободных полиаминов (ПА), а также интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ). Добавление в среду 100–150 мкМ Ni приводило к значительному снижению сырой массы растений и содержания воды в тканях по сравнению с контролем; 200 мкМ Ni вызывал серьезные повреждения растений, совместимые с жизнеспособностью *A. belladonna*, тогда как концентрации Ni 250 и 300 мкМ оказались летальными. В надземной части растений наибольшее количество Ni аккумулировали листья верхушки побега, которые содержали 220 мкг Ni/г сухой массы при добавлении в среду 200 мкМ Ni; при этом в корнях содержание Ni достигало 1500 мкг/г сухой массы. Обработка растений экзогенным пролином в присутствии 200 мкМ Ni в среде ингибировала поступление этого элемента в ткани, увеличивала содержание железа в листьях и, особенно, в корнях, снижала интенсивность ПОЛ и стабилизировала водный статус листьев. При действии 200 мкМ Ni наблюдали некоторое снижение содержания свободного путресцина и увеличение уровней спермина и спермидина в листьях по сравнению с контролем.

Токсическое действие никеля сопровождалось не только стимуляцией накопления высокомолекулярных ПА, но и их окислительной деградацией, что проявлялось в 14-кратном увеличении содержания 1,3-диаминопропана. Защитный эффект экзогенного пролина в условиях действия высоких концентраций никеля проявлялся в снижении интенсивности ПОЛ, в уменьшении дефицита железа и в торможении окислительной деградации ПА.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 10-04-00799-а, 10-04-90417-Укр\_а и Программы Президиума РАН "Молекулярная и клеточная биология".

## **ЭНДОГЕННЫЕ ПОЛИАМИНЫ И ФИТОГОРМОНЫ В ПРОРОСТКАХ ФАСОЛИ (*Phaseolus vulgaris* L.) В УСЛОВИЯХ ЗАСОЛЕНИЯ**

Стеценко Л.А.\* , Шевякова Н.И.\* , Веденичева Н.П.\*\* , Войтенко Л.В.\*\* , Мусатенко Л.И.\*\* , Кузнецов Вл.В.\*

\* Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, ул. Ботаническая 35, 127276 Москва, Россия, тел.: (495)2318355, факс: (495)9778018

\*\* Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины, ул. Терещенковская 2, 01601 Киев, Украина, тел./факс: +38(044)2341064

E-mail: larstet@mail.ru (Стеценко Л.А.), vedenicheva@ukr.net (Веденичевой Н.П.)

Исследовали изменение содержания фитогормонов (ФГ) и полиаминов (ПА) у растений *Phaseolus vulgaris* L., выращенных в водной культуре в факторостатных условиях. В питательную среду одноразово вносили NaCl до концентрации 50, 100, 150, 200 мМ и исследовали влияние засоления (4 сут) на ростовые показатели, содержание свободных и связанных ПА и ФГ у 2-х недельных проростков фасоли. ырая масса проростков, линейные размеры первичных листьев и корней, а также эпикотили снижались при всех концентрациях NaCl. В корнях при действии 50 и 100 мМ NaCl содержание свободного путресцина (Пут) снизилось на 50-60 %, а уровень его производных – спермидина (Спд) и спермина (Спм) – практически не изменился. В листьях, напротив, при засолении 50 и 100 мМ NaCl отмечалось повышение содержания свободных Пут, Спд и Спм. При концентрации соли в среде 150 мМ происходило снижение содержания кадаверина (Кад), Спд и Спм в листьях. При действии 200 мМ NaCl в листьях проростков фасоли ПА не были обнаружены. Уровень свободного Кад повышался в листьях в диапазоне 50 – 100 мМ соли и снижался при действии 150 мМ NaCl. Концентрация 150 мМ NaCl являлась токсичной для листьев и вызывала в них резкое уменьшение содержания всех связанных конъюгатов ПА за исключением

Спм. В то же время в корнях при отсутствии изменений во фракции свободных Спд и Спм их содержание в конъюгированной форме несколько повышалось, но наиболее значимое накопление в связанной форме проявилось для Кад. Наиболее существенные изменения наблюдались в содержании свободной АБК в корнях и менее значимые – в листьях. В присутствии 100 мМ NaCl в корнях повышается содержание свободной АБК и снижается количество связанной. Уровень свободной ИУК в корнях в условиях засоления менялся не существенно; в связанной же форме уровень ИУК снижался вдвое при концентрации NaCl 50 мМ, а при концентрации 100 мМ – увеличивался в три раза. Содержание свободной и связанной ИУК в листьях изменялось сходным образом: в присутствии 50 мМ NaCl происходило снижение концентрации гормона, а при 100 мМ – повышение в 1.5-1.8 раза. В корнях обнаружен резкий (в десятки раз) подъем уровня зеатина, зеатинрибозида и зеатингликозида под влиянием 50 мМ NaCl, тогда как при засолении 100 мМ NaCl содержание этих цитокининов повышалось не более, чем в 3 раза. В листьях экспозиция проростков в присутствии 50 мМ NaCl приводила к снижению концентрации зеатиновых цитокининов, а при 100 мМ – к ее резкому увеличению в десятки раз. Изменения содержания изопентениладенозина в листьях и корнях были подобны таковым для цитокининов зеатинового ряда, уровень же изопентениладенина изменялся незначительно. Была установлена положительная корреляция между накоплением АБК и Кад при засолении проростков фасоли.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ10-04-00799-а, 10-04-90417-Укр\_а и Программы Президиума РАН “Молекулярная и клеточная и биология”.

## **ПРОЛИН ЗАЩИЩАЕТ РАСТЕНИЯ *Atropa belladonna* L. ОТ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ СОЛЕЙ НИКЕЛЯ**

Стеценко Л. А., Шевякова Н. И., Ракитин В. Ю., Кузнецов Вл. В.

Учреждение Российской академии наук Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева РАН; ул. Ботаническая, 35, 127276 Москва, тел.: (495)2318355, факс: (495)9778018

E-mail: larstet@mail.ru (Стеценко Л.А.)

Растения *Atropa belladonna* L. выращивали в водной культуре и в возрасте 8 нед. в питательную среду однократно вносили NiCl<sub>2</sub> до конечных концентраций 0 (контроль), 50, 100, 150, 200, 250 и 300 мкМ. Через 4 суток действия хлористого никеля в растениях измеряли содержание воды,

анализировали содержание пролина, Ni, Fe, свободных полиаминов (ПА), а также интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ). Добавление в среду 100-150 мкМ Ni приводило к значительному снижению сырой массы растений и содержания воды в тканях по сравнению с контролем; 200 мкМ Ni вызывал серьезные повреждения растений, совместимые с жизнеспособностью *A. belladonna*, тогда как концентрации Ni 250 и 300 мкМ оказались летальными. В надземной части растений наибольшее количество Ni аккумулировали листья верхушки побега, которые содержали 220 мкг Ni/г сухой массы при добавлении в среду 200 мкМ Ni; при этом в корнях содержание Ni достигало 1500 мкг/г сухой массы. Обработка растений экзогенным пролином в присутствии 200 мкМ Ni в среде ингибировала поступление этого элемента в ткани, увеличивала содержание железа в листьях и, особенно, в корнях, снижала интенсивность ПОЛ и стабилизировала водный статус листьев. При действии 200 мкМ Ni наблюдали некоторое снижение содержания свободного путресцина и увеличение уровней спермина и спермидина в листьях по сравнению с контролем. Токсическое действие никеля сопровождалось не только стимуляцией накопления высокомолекулярных ПА, но и их окислительной деградацией, что проявлялось в 14-кратном увеличении содержания 1,3-диаминопропана. Защитный эффект экзогенного пролина в условиях действия высоких концентраций никеля проявлялся в снижении интенсивности ПОЛ, в уменьшении дефицита железа и в торможении окислительной деградации ПА.

## **АДАПТАЦИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА РАСТЕНИЙ *Deschampsia antarctica* Desv. К ВОЗДЕЙСТВИЮ УФ-В**

Стороженко В.А., Светлова Н.Б., Таран Н.Ю.

Киевский национальный университет им. Тараса Шевченко; ул. Владимирская, 64, 01033 Киев, тел: 38(044)5251427

E-mail: [vstoro@mail.ru](mailto:vstoro@mail.ru)

*Deschampsia antarctica* Desv. (луговик антарктический) – типичный представитель флоры прибрежной части Антарктиды. Уникальность данного вида состоит в особенностях его онтогенеза (вегетация при низких температурах с короткой репродуктивной фазой), нетипичного фотопериодизма (адаптация фотосинтетического аппарата (ФС-аппарата) к условиям полярного дня), стойкость к жесткому ультрафиолетовому излучению (УФ-В).

Для выяснения адаптационных возможностей данного вида нами было изучено влияние УФ-В на функциональное состояние фотосинтетического аппарата *D. antarctica*.

Контрольные растения выращивались в условиях освещения лампами ДРЛ в течении 10 дней (фотопериод – 16 ч), экспериментальные – при тех же условиях в течении 10 дней и затем облучались УФ-В (лампа TL 20BB/12RS (Philips), 280-300 нм). Доза УФ-В составляла 6,17 кДж/м<sup>2</sup>. Расстояние от источника излучения до растений составляло 10 см.

Механизмы защиты растений *D. antarctica* от УФ-В проявлялись на различных уровнях структурной организации ФС-аппарата. В частности, на фоне общего снижения содержания хлорофилла *a* и *b*, содержание каротиноидов (кар) было неизменным. Соотношение хл *a*/хл *b* оставалось стабильным, а соотношение хл/кар снижалось. Таким образом активность обеих фотосистем не изменялась (стабильный параметр хл *a*/хл *b*), на фоне увеличения защитных функций каротиноидов (снижение параметра хл/кар).

В то же время, содержание галактолипидов, моногалактозилдиацилглицерола (МГДГ) и дигалактозилдиацилглицерола (ДГДГ) в листьях снижалось, хотя при этом соотношение ДГДГ/МГДГ увеличивалось, что может свидетельствовать о смещении соотношения между би- и небислойными липидными структурами фотосинтетических мембран и хлорофилл-белковых комплексов. Содержание сульфохинозилдиацилглицерола (СХДГ) не изменялось, что на фоне снижения содержания ДГДГ может выступать в качестве защитного механизма, направленного на уменьшение деградации этого РЦ, и поддержания условий для стабилизации фотосинтетической функции в стрессовых условиях.

Соотношение пигмент-белковых комплексов хлоропластов в условиях воздействия жестким ультрафиолетом также изменялось. В частности, содержание хлорофилла в пигмент-белковых комплексах ФС I (CP1a+CP1) повышалось на фоне его снижения в пигмент-белковых комплексах РЦ ФС II.

Таким образом, механизмы адаптации растений *D. antarctica* к условиям воздействия УФ-В проявлялись на различных уровнях организации фотосинтетического аппарата, что расширяет наши представления о механизмах защиты видов-эндемиков к условиям влияния УФ-В.



## ПЕРЕРАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПОТОКОВ ЭЛЕКТРОНОВ НА КИСЛОРОД В ХЛОРОПЛАСТАХ В УСЛОВИЯХ ОСМОТИЧЕСКОГО СТРЕССА

Стриж И.Г.

Биологический ф-т МГУ им. М.В. Ломоносова, Ленинские горы, д. 1, стр. 12,  
119991, Москва, Россия, факс: (495)9394309

E-mail: [irina.strizh@mail.ru](mailto:irina.strizh@mail.ru)

Резкие изменения климата в последние десятилетия, а также антропогенная и техногенная деятельность человека, привели к тому, что одним из самых распространенных явлений в природе, которые оказывают неблагоприятное действие на растения, является осмотический стресс. Он наблюдается не только в условиях засухи, но и при засолении почвенных и водных ресурсов, а также в случае загрязнения почв нефтью и нефтепродуктами. Важным фактором, определяющим устойчивость растений, является эффективность работы сенсорных, сигнальных и регуляторных систем на клеточном уровне, позволяющих быстро адаптироваться растениям к стрессовым условиям. Ключевую регуляторную роль для множества метаболических процессов играют хлоропласты, во многом, благодаря регуляции редокс состояния клетки. Одним из основных способов изменения редокс состояния хлоропластов и клетки в целом является продукция активных форм кислорода (АФК). Фотовосстановление  $O_2$  в электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) хлоропластов, или реакция Мелера, является хорошо известным физиологическим альтернативным путём переноса электронов часто реализуемым в условиях абиотического стресса. Несмотря на то, что фотосистема (ФС) 1 является основным местом сброса электронов на кислород, существуют данные свидетельствующие о том, что образование  $H_2O_2$ , наиболее вероятно, происходит на уровне пула пластохинонов. Анализ результатов ряда независимых экспериментов, проводимых на растениях, выращиваемых в условиях различных абиотических стрессов, результатом которых является осмотический стресс, позволил выявить важную физиологическую закономерность. В хлоропластах устойчивого сорта пшеницы была обнаружена активация фотовосстановления  $O_2$  с образованием  $H_2O_2$  по мере увеличения водного дефицита листьев, но его снижение у неустойчивого сорта. Транспорт электронов на  $O_2$  с образованием  $O_2^{\cdot-}$  на акцепторной стороне ФС1, наоборот, снижался в 7 раз в хлоропластах устойчивого сорта, и мало менялся у неустойчивого сорта. В другой серии опытов, проводимых с проростками овса, выращиваемыми на нефтезагрязненном и засоленном верховом торфе, мы обнаружили, что в неблагоприятных условиях

наблюдается активация фотообразования  $O_2^-$  на уровне ФС1, тогда как внесение минеральной подкормки, способствующей росту растений, проявлялось в снижении скорости фотогенерации  $O_2^-$  в хлоропластах на уровне ФС1 и в стимуляции фотообразования  $H_2O_2$ . Сходная тенденция была зарегистрирована при адаптации полыни к солевому шоку: через час наблюдалась активация транспорта электронов с образованием  $H_2O_2$  и снижение интенсивности фотообразования  $O_2^-$  тогда как в относительно менее устойчивой сведе, результаты были прямо противоположными. Можно предположить, что перераспределение потоков электронов в ЭТЦ хлоропластов, а именно снижение интенсивности образования  $O_2^-$  на уровне ФС1 и активация фотообразования  $H_2O_2$ , является одним из механизмов устойчивости растений к осмотическому стрессу.

## **О ВОЗМОЖНОСТИ СНИЖЕНИЯ ИНГИБИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ПРОТРАВИТЕЛЯ ВИНЦИТ НА РОСТ ПРОРОСТКОВ ЯЧМЕНЯ (*Hordeum vulgare* L.) С ПОМОЩЬЮ БРАССИНОСТЕРОИДОВ**

Судник А.Ф.

Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф.Купревича НАН Беларуси;  
ул. Академическая, 27, 220072 Минск, тел.: (8017)2841852, факс: (8017)2841853

E-mail: [allasudnik@tut.by](mailto:allasudnik@tut.by) (Судник А.Ф.)

Для снижения фитотоксического действия протравителей, особенно на прорастание семян и рост проростков, перспективным является использование различных регуляторов роста.

На примере четырех генотипов ярового ячменя (сорта Роланд, Зазерский 85 и созданные на их основе изоплазматические линии) как моделей, различающихся чувствительностью к действию физиологически активных веществ, показаны особенности фитотоксического влияния фунгицида-протравителя Винцит (д.в. тиабендазол, 2,5% + флутриафол, 2,5%) (фирма Кеминова А/С, Дания). У сорта Роланд и изоплазматической линии с его ядром протравитель снижал лабораторную всхожесть семян. У всех генотипов в фазу развертывания первого настоящего листа наблюдали разной степени ингибирование линейного роста и накопления массы преимущественно надземной части проростков. При этом происходили существенные изменения в содержании легкорастворимых белков и некоторое снижение количества зеленых пигментов за счет хлорофилла *a*. У более восприимчивых генотипов

с ядром сорта Роланд торможение ростовых процессов было связано также с ингибированием накопления структурных белков, водорастворимых углеводов (преимущественно моносахаров) и подавлением фотохимической активности хлоропластов.

Выявлены особенности взаимодействия brassinosterоидов – эпи- и гомобрассинолида с Винцитом. У генотипов с ядром сорта Роланд фитогормоны нивелировали отрицательный эффект протравителя на всхожесть семян. У всех генотипов они снимали угнетающее действие на линейный рост проростков и повышали их массу, стабилизировали содержание легкорастворимых белков, интенсифицировали накопление фотосинтетических пигментов и водорастворимых углеводов в листьях. У более восприимчивых генотипов с ядром сорта Роланд их положительный эффект на рост проростков в условиях токсического действия протравителя сопровождался также восстановлением количества структурных белков, активацией синтеза легкорастворимых белков и начальных реакций фотосинтеза, связанных с фотоокислением воды. Brassinosterоиды мало различались по своему антагонистическому действию к влиянию фунгицида на рост. Тем не менее, гомобрассинолид более эффективно стимулировал рост проростков, увеличивал содержание сахаров, легкорастворимых и структурных белков в листьях, в то время как эпибрассинолид в большей степени влиял на накопление фотосинтетических пигментов и в равной степени – на фотохимическую активность хлоропластов.

Обоснована и экспериментально проверена возможность сокращения рекомендуемой дозы Винцита в комбинированных смесях с эпибрассинолидом без снижения биозащитного эффекта против возбудителей корневых гнилей.

## **МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ПОТЕНЦИАЛА ДЕЙСТВИЯ У ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ**

Сухов В.С., Неруш В.Н., Воденеев В.А.

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, пр. Гагарина, 23, 603950, тел.: (831)4656106, факс.: (831)4658992

E-mail: [vssuh@mail.ru](mailto:vssuh@mail.ru) (Сухову В.С.)

Существование в изменчивых условиях окружающей среды требует наличия у растений распространяющихся стрессовых сигналов,

одним из которых является, по-видимому, потенциал действия (ПД). В настоящее время относительно изучен процесс генерации ПД у высших растений, однако вопрос о механизмах распространения ПД остается открытым. Рассматривается два альтернативных пути его проведения – симпласт паренхимных клеток проводящих пучков и ситовидные элементы, каждый из которых подтверждается экспериментально. Можно предположить, что проблема механизма распространения ПД у высших растений может быть решена теоретическими методами, в частности, путем анализа математической модели его распространения. В литературе такая модель отсутствует, ее разработка и верификация стала целью настоящей работы.

При разработке модели распространения ПД была использована двумерная система возбудимых элементов (30 x 800 клеток) с локальной электрической связью и диффузией ионов. Каждый элемент (клетка) был описан с использованием ранее разработанной нами модели генерации ПД у растения, которая учитывала функционирование ионных каналов, транспортных АТФаз и регуляторную роль  $Ca^{2+}$ . Для упрощения модели в ней было использовано стационарное описание мембранного потенциала. Стимуляция имитировалась постепенным охлаждением участка системы (30 x 100 клеток). Уравнения модели решались численно, при вычислении были одновременно использованы различные временные шаги: 100 мс – для процессов генерации ПД, 50 мкс – для процессов электротонического распространения потенциала, 10 мс – для диффузии ионов. Расчеты проводились с использованием специальной программы, написанной на языке Borland Delphi 7.

При исследовании описания моделью пассивного распространения электрического потенциала, возбудимость нестимулируемой зоны была подавлена путем снижения внешней концентрации  $Ca^{2+}$ . Показано, что в таких условиях модель описывает экспоненциально затухающие электрические сигналы, кабельные постоянные для которых близки к экспериментальным (2-8 мм). При исследовании описания моделью активного распространения (все клетки системы оставались возбудимыми) показано, что имитированные моделью ПД по качественным и количественным характеристикам близки к экспериментальным. Дополнительно было показано, что описанное моделью распространение ПД по симпласту подчиняется кабельному уравнению.

В целом разработанная модель корректно описывает активное и пассивное распространение ПД и может быть использована в качестве инструмента для дальнейшего теоретического изучения этого процесса.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 09-04-01413-а.

## **ВИДОСПЕЦИФИЧНОСТЬ АККУМУЛЯЦИИ ВОССТАНОВЛЕННОЙ ФОРМЫ ГЛУТАТИОНА В АССИМИЛЯЦИОННОМ АППАРАТЕ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ, ИСПЫТЫВАЮЩИХ ВЛИЯНИЕ ПРОМЫШЛЕННЫХ ЭМИССИЙ**

Сыщиков Д.В.

Криворожский ботанический сад НАН Украины; ул. Маршака, 50, 50089 Кривой Рог, тел.: (+380564)384922, факс: (+380564)384803

E-mail: 2007dmitry@rambler.ru

Несмотря на широко описанную в литературе антиоксидантную функцию глутатиона, его содержание в ассимиляционном аппарате древесных растений, испытывающих действие эмиссий промышленных предприятий, остается недостаточно изученным, что и являлось целью нашей работы. Объектами исследований были древесные растения тополя Болле (*Populus bolleana* Lauche) и клена ясенелистного (*Acer negundo* L.). Исследования проводились на мониторинговых участках ОАО "Суриковский завод" и ОАО "АрселорМиттал Кривой Рог", заложенных в зонах сильного и слабого загрязнения. Концентрация восстановленной формы глутатиона определялась спектрофотометрически по модифицированному нами методу E.Beutler. Проведенные исследования позволили установить, что на мониторинговых участках, расположенных на территории ОАО "Суриковский завод" и ОАО "АрселорМиттал Кривой Рог" в зонах сильного загрязнения, интенсивность окислительных процессов в листьях тополя Болле возрастала, что и привело к статистически достоверному увеличению содержания антиоксиданта более чем на 40% по отношению к контролю. Приведенные данные свидетельствуют о значительной активации глутатионзависимой антиоксидантной системы, вероятно, путем ускорения функционирования redox цикла антиоксиданта соответствующими глутатионзависимыми ферментами и возможной интенсификацией его синтеза de novo. В зонах слабого загрязнения указанных предприятий концентрация трипептида не отличалась от контроля. Наряду с этим, в листьях клена ясенелистного, отмечена несколько иная стратегия деактивации активных форм кислорода и их метаболитов, образующихся в клетках под действием промышленных эмиссий двух предприятий. Так, у данного вида не было установлено статистически достоверной разницы содержания восстановленной формы глутатиона в ассимиляционном аппарате по отношению к контролю на всех мониторинговых участках. Полученные данные, скорее всего, свидетельствуют именно о значительной интенсификации ферментативной реутилизации исследуемого

трипептида, а не о его активном синтезе. Таким образом, в результате проведенных исследований нами отмечено несколько стратегий деактивации активных форм кислорода и их метаболитов, образующихся в клетках при действии неблагоприятных факторов окружающей среды. Одной из них является интенсификация накопления восстановленной формы глутатиона при промышленном загрязнении, возможно за счет ускорения его синтеза. Другой – стабилизация содержания антиоксиданта на уровне контроля за счет активации функционирования ферментов его восстановления (глутатион- и аскорбатзависимые редуктазы). По нашему мнению, флуктуации содержания восстановленной формы глутатиона можно рассматривать в качестве одного из показателей устойчивости растений к действию промышленного загрязнения.

## **ЭКСПРЕССИЯ АБК-ЗАВИСИМЫХ ГЕНОВ ПРИ ХОЛОДОВОЙ АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ**

Таланова В.В., Титов А.Ф., Топчиева Л.В.

Институт биологии Карельского научного центра РАН; ул. Пушкинская, 11, 185910 Петрозаводск, тел.: (8142)762712, факс: (8142)769810

E-mail: [talanova@krc.karelia.ru](mailto:talanova@krc.karelia.ru) (Талановой В.В.), [titov@krc.karelia.ru](mailto:titov@krc.karelia.ru)

Реакция растений на действие пониженных температур и формирование повышенной устойчивости к ним связаны с изменением экспрессии довольно большого числа генов (Thomashow, 1999). В регуляции экспрессии ряда из них может участвовать стрессовый фитогормон абсцизовая кислота (АБК) (Gusta et al., 2005). Учитывая это, нами изучена динамика экспрессии АБК-зависимых регулируемых низкой температурой *Cor*-генов (Cold regulated) (*Wrab17*, *Wrab19*) и генов транскрипционных факторов (*bZIP*, *CBF4*) при холодной адаптации растений пшеницы.

Исследования проводили на недельных проростках яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Ленинградская 97, которых подвергали воздействию температуры 4°C в течение 7 сут. Уровень экспрессии генов в листьях оценивали методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени.

Установлено, что в начальный период закаливания (первые 5 ч), когда холодоустойчивость проростков еще оставалась на исходном уровне, существенных изменений в экспрессии гена *Wrab17* не происходило, однако при более длительном действии холода (1 сут) наблюдалось резкое

ее усиление. Через 2 сут закаливания отмечен максимум накопления транскриптов гена, в дальнейшем (через 3–7 сут) уровень экспрессии несколько снижался, но тем не менее оставался довольно высоким. Экспрессия гена *Wrab19* в листьях проростков усиливалась уже через 30 мин действия температуры 4°C и сохранялась на повышенном уровне в течение всего периода холодого воздействия.

Экспрессия гена *Wabi5*, принадлежащего к семейству генов транскрипционных факторов *bZIP*, повышалась в листьях проростков через 1 сут закаливания, а затем наблюдалось ее снижение до уровня контроля. Значительное усиление экспрессии гена транскрипционного фактора *CBF4* отмечено нами уже через 15 мин от начала действия холода.

Полученные результаты показали, что в условиях действия низкой закаливающей температуры существует определенная зависимость между уровнем экспрессии АБК-зависимых *Cor*-генов (*Wrab17*, *Wrab17*) и генов транскрипционных факторов (*bZIP*, *CBF4*) в листьях проростков пшеницы, с одной стороны, и процессом повышения их холодоустойчивости, с другой стороны. Это свидетельствуют в пользу участия этих генов и кодируемых ими белков в формировании повышенной устойчивости.

Работа поддержана грантом РФФИ № 10-04-00650.

## **РЕАКЦИЯ РИСА (*Oriza sativa L., subsp. sino-japonica*) НА НИЗКИЕ ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ ТЕМПЕРАТУРЫ И ТРАНСДУКЦИЯ СТРЕССОРНОГО СИГНАЛА В ОНТОГЕНЕЗЕ РАСТЕНИЙ**

Таранов О.Н.

Институт биологии и биотехнологии растений, 050040, г. Алматы,  
ул. Тимирязева, 45, тел. (727)3947551, факс (727)3947562

E-mail: [gen\\_dana@mail.ru](mailto:gen_dana@mail.ru)

Казахстан относится к самой северной зоне рисосеяния в мире, которая ограничивается минимальной суммой температур для вегетации растений, не превышающий 3000-4000°C. Рис возделывается здесь на площади более 100 тыс. гектар при затоплении в инженерно-обустроенных системах как приоритетная культура, обеспечивающая население республики диетическим питанием и диверсификацию экспорта.

В Институте биологии и биотехнологии растений (ИББР) созданы казахстанские сорта риса, востребованные производством и

районированные в Алматинской и Кызылординской областях: «Алтынай» – первый отечественный длиннозерный сорт, «Баканасский» – интенсивный скороспелый сорт, занимающий основные площади посева на Акдалинском массиве рисосеяния и «Мадина» – крупнодлиннозерный сорт, отвечающий мировым стандартам, а также перспективная сортоформа «Аналог-2».

В практике селекционной работы с рисом возникла необходимость более детального понимания общих и специфических механизмов физиологической адаптации растений к низкотемпературному фактору. Нас интересовала реакция риса на действие низких положительных температур в период всходы – кущение и их последствие в онтогенетическом развитии растений.

Экспериментальную работу проводили в условиях оранжереи фитотрона ИББР. Объектами исследования служили казахстанские сорта риса селекции ИББР. Опытные растения выращивали при контролируемой температуре 8-12,5°C в фазах всходы-кущение и оптимальной температуре воды и почвы при 30°C в последующие фазы онтогенеза.

В результате проведенных исследований установлено, что прорастание семян и формирование всходов риса начинается при температуре почвы и окружающей среды не ниже 12°C. При этом особенности роста и морфогенеза на уровне целого организма в сравниваемых сортовых популяциях были практически нивелированы.

Принципиальное значение имеет вывод о том, что низкие положительные температуры на первых этапах онтогенеза задерживают дифференциацию конуса нарастания. Так, дифференциация точек роста оказалась заторможенной на протяжении более 5 месяцев продолжения эксперимента. Одновременно с этим было отмечено новообразование дополнительных побегов и стимуляция кущения, что особенно выражено у сортоформы «Аналог-2». Можно предположить, что при низкой положительной температуре имело место стресс-регулируемая дифференциальная экспрессия генома.

Характерно также, что трансдукция стрессорного сигнала практически отсутствовала при переводе растений в оптимальные температурные условия выращивания и поддержания их на уровне 30°C в последующие этапы роста и развития растений. При этом изучаемые сорта нормально развивались и дали биологический урожай зерна-шалы.

В задачи дальнейших исследований входят более детальное изучение физиологических и клеточных механизмов адаптации и трансдукции стрессорного сигнала в условиях низких положительных температур.



## **ГОМЕОСТАЗ РАЗВИТИЯ КАК ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СОСТОЯНИЯ ОРГАНИЗМА: СВЯЗЬ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ В УСЛОВИЯХ ЗАГРЯЗНЕНИЯ**

Теребова Е.Н.\*, Евдокимова Е.В.\* , Галибина Н.А.\*\*

\* Петрозаводский Государственный Университет; ул. Ленина, 33, 185910  
Петрозаводск, тел.: (8142)711019, факс: (8142)711000

\*\* Институт леса Карельского Научного Центра РАН; ул. Пушкинская, 11, 185910  
Петрозаводск, тел.: (8142)768160, факс (8142)768160

E-mail: [eterebova@snw.ru](mailto:eterebova@snw.ru)

На Европейском Севере России лесные экосистемы – важнейшие ресурсные сообщества, которые интенсивно подвергаются воздействию промышленного загрязнения. Основным источником загрязнения на Северо-Западе Карелии является Костомукшский горно-обогатительный комбинат, уровень загрязнения (полиметаллическая пыль, сернистый ангидрид) которого оценивается как слабый. Стрессовое влияние загрязнения на популяции лесобразующих видов может быть выявлено на уровне онтогенеза – по состоянию особей, характеризующему стабильностью или гомеостазом развития. Стабильность развития организма можно оценить с помощью флуктуирующей асимметрии (ФА) различных признаков (Захаров и др., 2001). Нами установлено снижение стабильности развития сосны обыкновенной в зоне влияния комбината. При этом оказалось, что ФА является чувствительным показателем изменения функционального состояния растений, так как выявлены корреляции индекса ФА от содержания фотосинтетических пигментов и метаболитов в хвое загрязненных сосен. Оценка уровня внутрииндивидуальной изменчивости количественных признаков дала основание предположить, что нарушение гомеостаза развития первоначально связано с реакцией фотосинтетических пигментов на загрязнение (снижение количества хлорофилла «А» и «В»). Вариации пигментного аппарата приводят к нарушению процессов фотофосфорилирования (снижение нуклеотидов) в хвое и к снижению синтеза фотоассимилятов (снижение фосфорилированных сахаров). Дальнейшие процессы нарушения развития загрязненных сосен коррелируют с накоплением основных метаболитов в хвое (общий азот, фосфор, неорганический, лабильный, стабильный фосфор). Эта функциональная реакция метаболизма может иметь несколько причин: из-за нарушения функции фотосинтеза затрудняется отток ассимилятов в зоны потребления, поддержание гомеостаза основных химических

элементов на фоне снижения пигментов за счёт увеличения основных метаболитов, накопление высокоэнергетических соединений для репарации повреждений. Однако, высокий метаболический статус хвои не связан, с отмеченной нами ранее (Теребова и др., 2008), активацией поллютантами анаболических процессов хвои, так как продуктивность сосен не увеличивается. Также у загрязнённых сосен нарушаются свойства клеточных стенок хвои: происходит увеличение набухания и снижение количества карбоксильных групп в структуре. Таким образом, оценка флуктуирующей асимметрии позволила выявить связи между морфологическими и физиологическими показателями хвои сосны обыкновенной и оценить возможные изменения гомеостаза развития деревьев в условиях слабого загрязнения.

## **ВЛИЯНИЕ КОРНЕВОГО ЗАТОПЛЕНИЯ НА ТРАНСГЕННЫЕ РАСТЕНИЯ ПШЕНИЦЫ (*Triticum aestivum* L.), НЕСУЩИЕ АГРОБАКТЕРИАЛЬНЫЙ ГЕН *ipt***

Терешонок Д.В.\* , Степанова А.Ю.\*, Осипова Е.С.\* , Кудоярова Г.П.\*\* ,  
Высоцкая Л.Б.\*\* , Долгих Ю.И.\*

\* Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая, 35, 127276 Москва, тел.: (499)2318334, факс: (495)9778018

\*\* Институт биологии Уфимского научного центра РАН; пр. Октября, 69, 450054 Уфа, тел.: (3472)35-53-62, факс: (3472)35-62-47

E-mail: [gsc@ippras.ru](mailto:gsc@ippras.ru)

Затопление полей в основном связано с сезонными изменениями климата и часто носит кратковременный характер, но даже это приводит к значительному снижению урожайности многих ценных сельскохозяйственных культур. Из литературных данных известно о положительном влиянии экзогенных цитокининов при затоплении растений, в связи с чем было выдвинуто предположение, что повышение уровня эндогенных цитокининов должно улучшать выживаемость растений. Для выяснения роли цитокининов в устойчивости растений к стрессу нами были получены трансгенные растения пшеницы с агробактериальным геном *ipt*. Трансгенные растения обладали большей устойчивостью к затоплению по сравнению с контрольными растениями, о чем свидетельствовала их более высокая урожайность и меньшее ингибирование ростовых процессов в

период затопления. Исследование содержания цитокининов выявило значительные различия в содержании основного продукта фермента изопентенилтрансферазы – изопентениладенина, а также запасных (нуклеотидов цитокининов) и транспортных (рибозида зеатина) форм в пользу трансгенных растений. Тем не менее, содержание основной активной формы цитокининов (зеатина) было только на 10-15% выше у трансгенных растений. Следовательно, повышение устойчивости трансгенных растений связано не только с содержанием производных зеатина или изопентениладенина, но также и других форм цитокининов, которые, вероятно, обладают не меньшим физиологическим эффектом. Положительное действие эндогенных цитокининов на выживаемость растений в условиях затопления, возможно, связано с задержкой процесса старения. В связи с этим нами было определено содержание МДА, как продукта перекисного окисления липидов, так как по мнению ряда авторов, старение связано с окислительной деструкцией растительных клеток. Результаты нашей работы, проводимой на пшенице в условиях корневого затопления, показали, что скорость и интенсивность окислительных процессов, вызванных гипоксией, у трансгенных растений пшеницы, содержащих ген *ipt*, значительно ниже, чем у растений контрольной группы. Таким образом, повышенное содержание эндогенных цитокининов способствует повышению устойчивости растений к неблагоприятным условиям.

## **ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В КЛЕТКАХ ПЕРВИЧНЫХ КОРЕШКОВ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ПШЕНИЦ, ВЫЗВАННЫЕ ДЕЙСТВИЕМ СОЛЕВОГО СТРЕССА**

Терлецкая Н.В., Хайленко Н.А.

Институт биологии и биотехнологии растений НЦБ РК; ул. Тимирязева, 45, 050040 Алматы, тел.:(727)3947559, факс:(727)3747562

E-mail: [teni02@mail.ru](mailto:teni02@mail.ru), [khailenko@yandex.ru](mailto:khailenko@yandex.ru)

Триба *Triticeae Dum.*, к которой принадлежит мягкая пшеница (*Triticum aestivum L.*), обладает огромным потенциалом стрессоустойчивости. Дикие представители *Triticeae Dum.* растут в широком диапазоне условий во всем мире и имеют большие генетические вариации. Выявлено, что среди представителей этой трибы, содержащей даже галофиты, существует

значительная изменчивость в устойчивости к осмотическому и солевому стрессу. Новые данные о природе стрессоустойчивости представителей *Triticeae* Dum. могут открыть новые возможности поиска исходного селекционного материала, с привлечением в процесс гибридизации различных видов пшеницы и ее сородичей

Так как действие стресса, прежде всего, проявляется в снижении ростовых характеристик растительных организмов, существенное замедление роста в неблагоприятных условиях может быть вызвано, прежде всего, действием осмотического стресса на зоны деления и роста клеток кончика корня. Солевой стресс, как и засуха, несет в себе осмотическую компоненту. По определению Барлоу (1986), осмотическое регулирование – это приспособление клетки к изменяющимся условиям, которое достигается (а) без изменения в тургоре и (b) и без уменьшения ее водного содержания. Известно, что солетолерантные виды могут проявлять засухотолерантность в зонах водного стресса благодаря способности создавать низкий внутриклеточный осмотический потенциал.

Наши наблюдения показали, что цитологическая реакция клеток первичных корешков на солевой стресс в целом была схожей – развитие процесса плазмолиза, «сжатие» цитоплазмы и гибель клеток. Однако, выявлены и генотипические отличия видов пшеницы по их реакции на стресс. Так, у *T. aethiopicum* при концентрации NaCl 6 атм начало процесса плазмолиза наблюдали в единичных клетках, отмечены клетки с крупными вакуолями и даже делящиеся клетки. Массовый плазмолиз и гибель клеток происходили при усилении стрессового воздействия до 9 атм. Клетки *T. dicoccum* даже при 9 атм NaCl оставались в массе живыми. У *T. compactum* при усилении стресса процесс плазмолиза сопровождался «сжатием» ядер. У *T. sinskaya* уже при концентрации NaCl 6 атм отмечено начало лизиса клеточных оболочек, который усиливался при 9 атм NaCl. У таких форм, как *T. turgidum*, *T. compactum* v. *rufulum*, *T. spelta*, *T. kiharae*, и сорта Мироновская 808 при концентрации NaCl 6 атм визуальное действие стресса сказывалось не только на оводненности, но и на хромосомном аппарате клеток – помимо очень сильного плазмолиза отмечена фрагментация ядер, ведущая к их разрушению, которая усиливалась либо количественно, становясь массовой при концентрации NaCl 9 атм, либо качественно – вела к лизису ядер (у *T. compactum* v. *rufulum*), полному их исчезновению и гибели клеток.

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ДЕРЕВЬЕВ СОСНЫ КРЫМСКОЙ (*Pinus pallasiana* D.Don) С РАЗНОЙ СЕМЕННОЙ ПРОДУКТИВНОСТЬЮ В ТЕХНОГЕННЫХ ЭКОТОПАХ КРИВОРОЖЬЯ

Терлыга Н.С.

Криворожский ботанический сад НАН Украины, ул. Маршака, 50, г. Кривой Рог, 50089 Украина, тел.: (0564)384922, факс: (0564)384803

E-mail: [terlyga-natalja@rambler.ru](mailto:terlyga-natalja@rambler.ru)

В условиях техногенного загрязнения *Pinus pallasiana* D.Don отличается высокой индивидуальной изменчивостью по показателям семяношения и качества семян (Коршиков, Терлыга, Бычков, 2002). В связи с чем, нами были проведены исследования в четырех насаждениях *P. pallasiana* с разным уровнем техногенного загрязнения (на Первомайском железорудном отвале, в зонах острого действия выбросов Криворожского металлургического и Северного горно-обогатительного комбинатов) по выявлению деревьев с максимальной и минимальной продуктивностью полных семян и изучены их генетические особенности. Для определения генотипа у исследованных 100 деревьев использовали изоферменты десяти ферментных систем: алкогольдегидрогеназу (ADH), глутаматдегидрогеназу (GDH), глутаматоксалоацетаттрансаминазу (GOT), диафорузу (DIA), кислую фосфатазу (АСР), лейцинаминопептидазу (LAP), малатдегидрогеназу (MDH), супероксиддегидрогеназу (SOD), малик-энзим (ME) и формиатдегидрогеназу (FDH). В результате электрофоретического анализа были рассчитаны частоты аллелей по 22 изоферментным локусам и значения основных показателей генетического полиморфизма. По показателю продуктивности семян исследуемые деревья были объединены в четыре общие группы для анализа генетических отличий между ними – с высоким содержанием полных и пустых семян в шишке и, с низким содержанием полных и пустых семян. Генетическая дистанция ( $D_N$ ) М.Неи, учитывающая отклонения в аллельных частотах по всем анализируемым локусам, у сравниваемых групп, составляла 0,006-0,007. Средние значения наблюдаемой гетерозиготности во всем четырех выборкам были достаточно близки, изменяясь в пределах 25,3–28,8 %. Для трех анализируемых выборок свойствен некоторый избыток гетерозигот – наибольший в 11,6 % – для выборки деревьев с высокой пустосемянностью. И наоборот, у выборки деревьев с низким количеством пустых семян в шишках выявлен дефицит гетерозигот в 5,3%. Из 18 полиморфных локусов высоким уровнем изменчивости характеризовались 6 локусов: Got-2, Mdh-3, Dia-1, Dia-2, Asp, Me-3 во всех четырех группах растений, по которым доля гетерозигот варьировала

от 38,1 % до 71,4 %. По уровню гетерозиготности у деревьев с высокой и низкой пустосемянностью наибольшие отличия выявлены по локусам Sod-4, Mdh-2, Lap-2, Me-2. Практически все локусы, за исключением Got-3, с наибольшими отличиями в гетерозиготности у обеих альтернативных групп отнесены к низкоизменчивым. Таким образом, локусы с отклонениями в гетерозиготности в альтернативных выборках растений по семенной продуктивности, вероятно, сцеплены с генами, которые и определяют уровень изменчивости генома, а в итоге, – индивидуальную изменчивость показателей половой репродукции.

## **ПЕРСПЕКТИВНОСТЬ ИЗМЕРЕНИЯ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ДЛЯ ОЦЕНКИ ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ**

Тимергалин М.Д., Шарипова Г.В., Веселов Д.С., Никонов В.И., Кудоярова Г.Р.

Институт биологии, УНЦ РАН, Уфа, пр. Октября, 69, 450054, тел. +73472355362, fax: +73472356247

E-mail: [veselov@anrb.ru](mailto:veselov@anrb.ru)

Отбор засухоустойчивых растений, в основном, проводится по урожайности в условиях засухи (Charman et al., 1999). Этот подход имеет ряд серьезных недостатков, один из которых – непредсказуемость и нерегулярность засухи в естественных условиях (Jones, 2007). Поэтому не прекращаются попытки использовать физиологические признаки для отбора на засухоустойчивость, которые в некоторых случаях были успешными, но не всегда приводили к положительным результатам, что можно объяснить вариабельностью условий проведения полевых опытов (Fischer et al., 2010). Нами была предпринята попытка оценки физиологических признаков различных сортов в контролируемых лабораторных условиях. Дефицит воды создавали, добавляя в питательную среду хлорид натрия до конечной концентрации 100 мМ. Для того, чтобы исключить токсический эффект действия засоления, в качестве объекта были выбраны растения мягкой пшеницы, которые отличаются высоким уровнем эксклюзии ионов натрия (Munns et al., 2006). Работа проводилась на 6 сортах пшеницы, районированной в республике Башкортостан. В качестве критерия для оценки их засухоустойчивости служили данные по урожайности этих сортов в засушливых условиях 2009 г. Наиболее засухоустойчивыми (урожайными в условиях засухи) оказались растения сортов Омская 35 и Симбирка, менее устойчивыми – Башкирская 26 и Ирень, наиболее чувствительными к засухе – Экада и Казахстанская 10. Для выявления

признаков, по которым можно оценить потенциальную засухоустойчивость растений, определяли уровень их транспирации, ОСВ, осмоляльность и вес растений через разные промежутки времени после добавления хлорида натрия в питательную среду. При этом варьировали температуру и влажность воздуха, пытаясь подобрать оптимальные условия для проявления связи физиологических признаков с засухоустойчивостью. Ее уровень оценивали с помощью корреляционного анализа. Обнаружена высокая фенотипическая вариабельность уровня транспирации, что не позволило выявить различия между сортами по этому признаку. Через 9 дней после начала эксперимента обнаружено накопление осмотически активных веществ, которое было максимальным в зоне роста листа. Уровень накопления осмотиков был самым высоким у растений Омской 35 и Экады и минимальным – у Симбирки. Связи этого признака с засухоустойчивостью выявить не удалось. Обнаружена корреляция между ОСВ, которую измеряли через сутки после начала действия дефицита воды, степенью накоплением биомассы (масса листьев через неделю, выраженная как % от контроля) и урожайностью растений в полевых условиях. Высокий уровень корреляции (около 0,9) был обнаружен на фоне низкого (50 %) уровня относительной влажности воздуха.

## **ЛЕКТИНЫ КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ В АДАПТИВНЫХ РЕАКЦИЯХ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ**

Тимофеева О.А., Невмержицкая Ю.Ю., Мифтахова И.Г., Михайлов А.Л., Стробыкина А.С.

ФГАОУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Кремлевская, 18, 420008, Казань, тел.: (843)2337817, факс: (843)2387121  
E-mail: [Olga.Timofeeva@ksu.ru](mailto:Olga.Timofeeva@ksu.ru) (Тимофеевой О.А.)

Целью настоящей работы было выяснение механизмов регуляции активности лектинов при действии на растения пшеницы стрессорных факторов биотической и абиотической природы.

Объектом исследований служили корни и листья отличающихся по морозоустойчивости сортов озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Растения выращивали в лабораторных условиях в кюветах на водопроводной воде при освещенности 100Вт/м<sup>2</sup> и 12-часовом фотопериоде. Растворимые лектины экстрагировали 5 мл 0.05М HCl (Шакирова и др., 1983), лектины клеточных стенок – 0.05% раствором тритона X-100 и 0.9% раствором NaCl (Комарова, 1995) из фракции клеточных стенок (Feiz et al., 2006). Активность лектинов определяли по минимальной концентрации белка, вызывающей

агглютинацию трипсинизированных эритроцитов I группы крови (Луцки и др., 1981). Содержание белка в выделенных экстрактах определяли по методу (Bradford, 1976). Арабиногалактановые белки идентифицировали по реакции с реагентом Ярива (Yariv, 1962).

Показано, что лектины клеточной стенки представлены несколькими полипептидами, различающимися по молекулярной массе. Представлены доказательства участия лектинов клеточной стенки в неспецифических механизмах защиты растений. Начальным этапом формирования неспецифического защитного ответа растений является быстрое изменение активности и состава лектинов клеточной стенки, которое зависит от функционирования кальциевой сигнальной системы и может быть связано с участием лектинов в проведении сигнала в клетку или в апопластном пространстве. Продемонстрирована возможность регулирования активности и полипептидного состава лектинов клеточной стенки путем воздействия на растения фитогормонами и их структурными аналогами.

Обнаружена прямая зависимость между активностью лектинов клеточной стенки и степенью устойчивости растений озимой пшеницы к стрессорным факторам биотической и абиотической природы, что позволяет использовать данный показатель для экспересс-диагностики устойчивости сортов.

Выявлена генетически детерминированная и органоспецифичная зависимость между уровнем активности лектинов клетки и структурным состоянием цитоскелета.

Предлагается схема участия  $Ca^{2+}$ -сигнальной системы и цитоскелетных структур в механизме регуляции активности лектинов при формировании адаптивных реакций растений.

## **ВЛИЯНИЕ АБСЦИЗОВОЙ КИСЛОТЫ НА АКТИВНОСТЬ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ И ИНГИБИТОРОВ ТРИПСИНА ПРИ ХОЛОДОВОЙ АДАПТАЦИИ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ**

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

Институт биологии Карельского научного центра РАН; ул. Пушкинская, 11, 185910 Петрозаводск, тел.: (8142)769710, факс: (8142)769640  
E-mail: [titov@krc.karelia.ru](mailto:titov@krc.karelia.ru) (Титову А.Ф.)

Адаптация растений пшеницы к низким температурам сопровождается значительными изменениями в активности протеолитических ферментов



и их ингибиторов (Фролова, Титов, 2008). Учитывая их вклад в регуляцию многих биологических процессов и реакцию растений на меняющиеся условия среды, изучено влияние абсцизовой кислоты (АБК) на динамику активности протеолитических ферментов (амидаз, цистеиновых протеиназ) и ингибиторов трипсина в условиях холодогового (5°C) закаливания проростков озимой пшеницы (с. Московская 39).

Установлено, что обработка АБК (0.1 мМ) проростков, находящихся при 22°C, приводит к значительному снижению активности цистеиновых протеиназ и повышению активности амидаз и ингибиторов трипсина в их листьях. Одновременно с этим экзогенная АБК вызывала значительное увеличение холодоустойчивости проростков.

В начальный период (первые часы) действия низкой закаливающей температуры у проростков пшеницы, предобработанных АБК, отмечена повышенная (по отношению к контролю) активность амидаз и пониженная – цистеиновых протеиназ и ингибиторов трипсина. При этом наблюдалось дополнительное и значительное увеличение холодоустойчивости проростков, в результате чего она превышала уровень, характерный для проростков, закаливаемых в течение нескольких суток без АБК. В дальнейшем, при достижении устойчивости максимальных значений, активность амидаз постепенно снижалась (в течение 7 сут), а активность цистеиновых протеиназ и ингибиторов трипсина сначала повышалась (через 1–3 сут), а затем к концу эксперимента (на 7-е сут) снижалась до исходного уровня. Вероятно, указанные изменения активности протеиназ и ингибиторов трипсина, контролирующих процессы деградации и модификации белков и пептидов, связаны с комплексом событий в клетках, обусловленных действием неблагоприятных температур, часть из которых направлена на формирование устойчивости растений, а другая – на поддержание ее повышенного уровня.

Полученные данные свидетельствуют о том, что одним из способов влияния АБК на холодоустойчивость растений пшеницы могут быть вызванные ею изменения в активности протеолитических ферментов и их ингибиторов.

Работа поддержана грантом РФФИ № 10-04-00650.

## ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ И ИХ ИНГИБИТОРОВ ПРИ ХОЛОДОВОЙ АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ

Титов А.Ф., Фролова С.А., Топчиева Л.В., Малышева И.Е., Таланова В.В., Венжик Ю.В.

Институт биологии Карельского научного центра РАН; ул. Пушкинская 11, 185910 Петрозаводск, тел.:(8142)769710, факс: (8142)979610

E-mail: [titov@krc.karelia.ru](mailto:titov@krc.karelia.ru) (Титову А.Ф.)

В условиях контролируемой внешней среды изучали динамику экспрессии генов АТФ-зависимых протеиназ (*clpP*, *lon1*), генов цистеиновых протеиназ (*cp*) и их ингибиторов при холодной адаптации озимой пшеницы сорта Московская 39. Уровень экспрессии генов анализировали методом ПЦР в режиме реального времени.

В начальный период действия холода (5°C) одновременно с ростом устойчивости в листьях проростков происходило быстрое (через 0.5 ч) увеличение уровня экспрессии гена *cp*, кодирующего цистеиновую протеиназу. При более продолжительном низкотемпературном воздействии (1–3 сут) содержание мРНК гена *cp* постепенно снижалось, а через 4 сут (при достижении устойчивости максимума) возвращалось к исходному уровню. Аналогичные изменения отмечены и в экспрессии гена *lon1*, кодирующего АТФ-зависимые Lon протеиназы. Вероятно, снижение экспрессии *lon1* гена до исходного уровня уже на 2-е сут закаливания можно рассматривать как свидетельство начавшихся процессов стабилизации белковых комплексов в клеточных органеллах и адаптации растений к низкой температуре. Через 30 мин действия закаливающей температуры происходит усиление экспрессии *clpP* гена, однако ее уровень значительно снижается, когда устойчивость начинает расти, затем на 2-е сут закаливания вновь увеличивается и достигает исходного уровня одновременно с выходом устойчивости на плато. Характер изменений экспрессии этого гена подтверждает его возможное участие в регуляции протеолиза белков не только на самых ранних этапах адаптации, но и при пролонгированном действии холода.

Таким образом, в процессе холодого закаливания происходит быстрое увеличение уровня экспрессии генов *lon1*, *clpP* и *cp*, которое предшествует росту холодоустойчивости проростков пшеницы. Поэтому можно предположить, что повышение устойчивости в первые минуты и часы охлаждения связано с активацией экспрессии этих генов протеолитических ферментов, участвующих в деградации и модификации

белков, утративших в изменившихся условиях свои функции, и обеспечении клетки мономерными субстратами для синтеза *de novo* белков, необходимых для формирования повышенной устойчивости.

Одновременно с этим содержание транскриптов гена, кодирующего ингибитор цистеиновой протеиназы, увеличивалось через 0.5 ч закаливания, достигая своего максимального значения через 5 ч холодового воздействия, а через 1 сут снижалось и в дальнейшем практически не менялось. Это указывает на возможное участие этого ингибитора в регуляции активности протеолитических ферментов и предотвращении распада вновь синтезированных белков на начальных этапах действия на растения низкой закалывающей температуры.

Работа поддержана грантом РФФИ № 10-04-00650.

## **СТИМУЛИРОВАНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ УСТОЙЧИВОСТИ В ТКАНЯХ КАРТОФЕЛЯ ПОД ВЛИЯНИЕМ БИОПРЕПАРАТОВ**

Умаров И.А.,\* Цветков В.А.,\* Пусенкова Л.И.,\*\* Абизгильдина Р.Р.\*\*

\* ГОУ ВПО Башкирский государственный университет, г.Уфа, ул.3. Валиди, 32

\*\* ГНУ Башкирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства РАСХН, 450059, г. Уфа, ул. Р. Зорге, 19

E-mail: [zvetkovvo@rambler.ru](mailto:zvetkovvo@rambler.ru) (Умаров И.А.), [bioexperte@mail.ru](mailto:bioexperte@mail.ru)

Разработка и изучение свойств препаратов, проявляющих не только пестицидные свойства, но и обладающих способностью стимулировать естественные защитные механизмы самого растительного организма является актуальной задачей. Применение таких препаратов в растениеводстве позволит значительно снизить вредный побочный эффект на природные экосистемы, который неизбежен при использовании химических пестицидов.

Обработка биопрепаратами не вызывает в растениях видимых симптомов повреждений и накопления токсических стрессовых соединений, но сенсибилизирует растительную ткань, делая её устойчивой к последующему заражению. Неспецифическое индуцирование иммунных систем предполагает защиту растительных тканей от многих фитопатогенов, включая грибы, бактерии, вирусы, нематоды и насекомых – вредителей. Одним из важных факторов реализации фитоиммунитета является активизация ингибиторов, регулирующих активность гидролитических ферментов. Изменение активности ингибиторов ферментов в тканях является универсальной реакцией растений на действие факторов различной природы.

Целью нашей работы являлось изучение действия различных современных биопрепаратов на активность ингибиторов протеиназ и амилаз в тканях картофеля.

Наши эксперименты показали изменения в уровнях активности ингибиторов протеиназ и амилаз в клубнях картофеля при действии известных коммерческих биопрепаратов. Так при обработке клубней биопрепаратами Фитосорин, Фитоспорин+Гуми и Максим, наблюдается значительное повышение антипротеолитической активности по сравнению с контролем. В тоже время, обработка биопрепаратами Альбит и Мивал клубней картофеля, происходит подавление активности данных ингибиторов.

Обработка клубней картофеля растворами биопрепаратов в условиях модельных экспериментов изменяет активность ингибиторов гидролитических ферментов (протеиназ, амилаз). При этом разные препараты одной концентрации оказывают различное действие на активность ингибиторов. Одни препараты повышают ингибиторную активность, другие, напротив, полностью подавляют её. По-видимому, такие различия определяются не только химической природой (составом), но и различными концентрациями действующего вещества в составе определенного препарата.

Таким образом, уровень активности ингибиторов гидролитических ферментов в растительных тканях можно регулировать путем обработки растений препаратами – биорегуляторами с целью активации механизмов их устойчивости к воздействию фитофагов, однако обработка различными препаратами может вызывать как активацию, так и угнетение активности ингибиторов гидролаз.

## **ИЗМЕНЧИВОСТЬ МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ ПОДСОЛНЕЧНИКА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ДЕЙСТВИЯ КЛИМАТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ**

Устенко А.А., Усатов А.В.

Научно-исследовательский институт биологии ЮФУ; пр. Стачки, 194/1, 344090, г. Ростов-на-Дону, тел.: (863)269759, (863)2433394

E-mail: [usatova@mail.ru](mailto:usatova@mail.ru)

Подсолнечник является основной масличной культурой в России. Погодные условия, оказывающие существенное влияние

на рост и развитие подсолнечника в Ростовской области, крайне неустойчивы. В последние годы в период вегетации этой культуры наблюдаются частые засухи, сопровождающиеся аномально высокой температурой воздуха. Целью работы является изучение изменчивости морфофизиологических признаков подсолнечника в зависимости от действия климатических факторов. Исследование проводили с 2004 г. по 2009 г. на базе Донской опытной станции ВНИИМК, в Азовском районе Ростовской области. В работе использовали 10 сортов и гибридов подсолнечника, разделенных по срокам вегетации на три группы: раннеспелые, среднеранние и среднеспелые. Полевые опыты проводили согласно методике государственного сортоиспытания с/х культур. Анализировали следующие морфофизиологические характеристики: продолжительность сроков вегетации, показатели габитуса (высота растений и диаметр корзинки), урожайность и масличность семян. Суммы температур и количество осадков были взяты для анализа подекадно на метеостанции, расположенной в непосредственной близости от сортоиспытательного участка. В качестве величины, характеризующей степень увлажнения территории за вегетационный период, использовали условный показатель увлажнения – ГТК (гидротермический коэффициент Селянинова). Для корреляционного анализа использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена. У 9 из 10 исследованных форм продолжительность вегетационного периода достоверно зависела только от ГТК июля. Высота растений всех исследуемых форм положительно коррелировала с показателями ГТК июня и июля, а диаметр корзинки только с ГТК июня. Урожайность 8 форм подсолнечника за период наблюдения достоверно повышалось с ростом ГТК июня. Интересно отметить, что между масличностью семян среднеранних и среднеспелых форм и ГТК мая выявлена отрицательная корреляция. А масличность среднеспелых форм прямо пропорциональна ГТК августа. Таким образом, установленные нами корреляции между показателями хозяйственно-ценных признаков растений и ГТК в течение вегетации подсолнечника в Ростовской области свидетельствует, что на формирование количественных признаков габитуса влияют климатические факторы июня и июля, а урожайности только июня.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (грант «Развитие научного потенциала высшей школы (2009-2010)» № 2.1.1/4947).

## УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ, ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ФОТОТРОФНОГО ЗВЕНА БИОЛОГО-ТЕХНИЧЕСКИХ СИСТЕМ ЖИЗНЕОБЕСПЕЧЕНИЯ, К ДЕЙСТВИЮ ПОВЫШЕННЫХ ТЕМПЕРАТУР ВОЗДУХА

Ушакова С.А., Тихомиров А.А., Шклавцова Е.С., Шихов В.Н., Трифонов С.В.

Институт биофизики СО РАН; Академгородок 50/50, 660036 Красноярск, тел. (391)2494317, факс (391)2433400

E-mail: [sofya-ushakova@yandex.ru](mailto:sofya-ushakova@yandex.ru)

Устойчивость растительного звена биолого-технических систем жизнеобеспечения (БТСЖО) к возникновению нештатных ситуаций в значительной степени определяет устойчивость системы в целом. Среди таких ситуаций одной из реально возможных является частичный отказ системы терморегуляции. Следствием такого отказа может быть повышение до определенного уровня температуры воздуха в системе. Поэтому несомненную актуальность представляет оценка величины и длительности действия повышенных температур на функционирование фотосинтезирующего звена растений в БТСЖО. Это даст возможность оценить степень устойчивости ценозов растений к различным по длительности и величине температурным воздействиям и поможет определить временные интервалы, в рамках которых фотосинтезирующее звено не утратит своих регенерирующих газовый состав БТСЖО функций. Целью настоящего исследования является сравнительная оценка термоустойчивости ценозов растений, входящих в состав растительного звена БТСЖО, разрабатываемых в Институте биофизики СОРАН. В качестве объектов исследования были взяты ценозы холодостойких культур (пшеница *Triticus aestivum* L. и редис *Raphanus sativus* L. сорта Красный великан), имеющих разную структуру ценоза, и теплолюбивой культуры (чуфа *Cyperus esculentus* L.). Растения были выращены в условиях интенсивной светокультуры при непрерывном освещении и интенсивности ФАР 150 Вт/м<sup>2</sup>. В зависимости от вариантов опыта было изучено влияние длительности воздействия температуры воздуха 35°C или 45°C на ценозы растений, выращенных методом гидропоники на керамзите. В качестве питательных растворов были использованы среда Кнопа или специально подготовленные минерализованные экзометаболиты человека. В качестве показателей термоустойчивости ценозов растений были взяты составляющие внешнего CO<sub>2</sub> газообмена ценозов, продуктивность растений и состояние фотосинтетического аппарата листьев верхнего яруса, оцененное методами флуоресцентного анализа. Показано, что 20-ти часовое воздействие температуры воздуха 45°C приводит к необратимым

повреждениям ценозов пшеницы и редиса. У растений чуфы в ходе длительного аналогичного воздействия, после некоторого периода снижения, наблюдалось восстановление фотосинтетических процессов. Степень восстановительных процессов зависела от условий минерального питания и интенсивности ФАР во время действия стресс-фактора.

## **ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ ПОСЛЕ НЕКОРНЕВОЙ ОБРАБОТКИ МИКРОЭЛЕМЕНТНЫМ КОМПЛЕКСОМ И САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТОЙ**

Фазилова Р.Н., Половинкина Е.О., Веселов А.П.

ГОУ ВПО «Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского» (Национальный исследовательский университет), 603950, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23а, тел.: (831)465-61-04, факс: (831)465-97-58.

E-mail: [r.fazilov@gmail.com](mailto:r.fazilov@gmail.com) (Фазилу Р.Н.)

В условиях рискованного земледелия культурные растения постоянно подвергаются стрессирующим воздействиям. В активации механизмов адаптации к таким экстремальным условиям важную роль имеет антиоксидантная система, работа которой зависит от множества факторов, в частности от фитогормонального статуса, обеспеченности растений элементами питания и микроэлементами. В связи с этим исследовали влияние некорневой обработки микроэлементами и салициловой кислотой на антиоксидантную активность растений пшеницы при воздействии теплового шока.

Испытывали 2 типа обработки растений: МЭ - обрабатывали составом, содержащим только элементы питания и микроэлементы (N - 0,49%, K - 0,06%, S - 5,04%, Cu - 0,64%, Zn - 1,36%, Mg - 0,89%, Ni - 0,006%, Li - 0,04%, Co - 0,084%, Fe - 0,4%, Mn - 0,29%, Mo - 0,44%, B - 0,15%, Se - 0,009%), и составом на основе тех же элементов с добавлением салициловой кислоты – МЭ+СК. Далее часть растений подвергали тепловому шоку (ТШ-30 мин при 42°C). Контролем являлись растения, обработанные водой и не подвергнутые ТШ. Оценивалось содержание низкомолекулярного антиоксиданта – аскорбиновой кислоты (Аск) и активность антиоксидантных ферментов: каталазы (Кат) и глутатионтрансферазы (ГТ).

Аскорбиновая кислота в растениях является важным антиоксидантом, который участвует в утилизации свободных радикалов, являясь как самостоятельным восстановителем, так и субстратом антиоксидантных

ферментов глутатион-аскорбатного цикла. После обработки растений МЭ+СК количество аскорбиновой кислоты в растениях пшеницы уменьшалось на 32,5% под действием теплового шока. Другие варианты обработки не сказывались на содержании Аск после воздействия ТШ.

В клетках растений, обработанных МЭ и МЭ+СК, активность каталазы под действием теплового шока достоверно увеличивалась на 66% и 24% соответственно. В контрольных растениях ТШ не приводил к активации этого фермента. Активность ГТ под действием теплового шока достоверно не изменялась в контрольных растениях и предварительно обработанных МЭ, и снижалась на 40% в растениях после обработки МЭ+СК.

ГТ – важнейший фермент, участвующий в детоксикации продуктов перекисного окисления биологических молекул в клетке. Снижение его активности может свидетельствовать об уменьшении образования токсичных продуктов.

Таким образом, введение в состав микроэлементного раствора салициловой кислоты вызывало при тепловом шоке активацию первичных процессов антиоксидантной защиты – окисление Аск и повышение активности Кат, что могло приводить к остановке перекисации в стрессовых условиях уже на начальных этапах, о чем говорит снижение активности ГТ на этом фоне.

## **СОДЕРЖАНИЕ ПРОЛИНА И ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ ПРИ СТРЕССЕ У РАСТЕНИЙ *MELILOTUS ALBUS* М. И *TRIFOLIUM MEDIUM* L. ИЗ МЕСТООБИТАНИЙ С РАЗНЫМ УРОВНЕМ ТЕХНОГЕННОЙ НАГРУЗКИ**

Фазлиева Э.Р., Киселева И.С.

Уральский государственный университет им. А.М. Горького; ул. Куйбышева 48, 620083, г. Екатеринбург

E-mail: [elvira\\_nt@list.ru](mailto:elvira_nt@list.ru) (Фазлиевой Э.Р.), [Irina.Kiselyova@usu.ru](mailto:Irina.Kiselyova@usu.ru)

Адаптация растений к действию техногенных загрязнителей в значительной степени зависит от накопления в клетках низкомолекулярных антиоксидантов. Одним из универсальных стресс-протекторных соединений у высших растений является пролин, обладающий полифункциональным биологическим эффектом, в том числе антиоксидантным. Целью работы было изучение накопления пролина и интенсивности ПОЛ у дикорастущих видов растений из биотопов с разной техногенной нагрузкой при стрессовом воздействии



ионов меди. Объектами исследования были растения донника белого (*Melilotus albus* M.) и клевера среднего (*Trifolium medium* L.) из пяти местообитаний города Нижний Тагил и его окрестностей. Данные участки отличаются по уровню техногенной нагрузки и разделены на фоновый, буферные и импактный. Дополнительный сбор растений осуществляли на биологической станции УрГУ им. А.М. Горького в Сысертском районе Свердловской области, которая была определена как зона относительного экологического благополучия. У растений из разных зон определяли концентрацию пролина в норме и при стрессе, поскольку они, как мы предполагаем, обладают различной устойчивостью к поллютантам. В качестве стрессирующего фактора были выбраны ионы меди (10 мМ  $\text{CuSO}_4$ ).

В результате 2-х часового воздействия  $\text{Cu}^{2+}$  в листьях донника белого и клевера среднего из фоновой зоны и с биологической станции наблюдали понижение концентрации пролина в опытном варианте по сравнению с контролем ( $\text{H}_2\text{O}$ ). У растений из буферных и импактной зон содержание свободного пролина многократно возрастало при действии ионов меди. При этом интенсивность перекисного окисления липидов мембран у растений из загрязненных биотопов была ниже, чем из местообитаний, в меньшей степени подверженных техногенному воздействию. Можно предположить, что накопление пролина препятствует развитию ПОЛ при стрессе у растений из загрязненных местообитаний. Судя по возрастанию содержания пролина в ответ на действие ионов меди, растения донника белого и клевера среднего из загрязненных биотопов обладают лучшей способностью адаптироваться к хроническому воздействию избыточных концентраций тяжелых металлов, чем растения из незагрязненных или малозагрязненных биотопов. У исследуемых видов растений из импактных участков имеются механизмы адаптации на биохимическом уровне, проявляющиеся в существенной индукции синтеза пролина при действии поллютантов и как следствие, уменьшении повреждения мембран, о чем свидетельствует уменьшение интенсивности ПОЛ. Таким образом, можно предположить, что растения, находящиеся в условиях сильного продолжительного стресса в сравнении теми, которые не испытывают или в меньшей степени испытывают стресс, обладают большей устойчивостью к ионам меди.

Работа выполнена при поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» ГК № П2364. ГК П1301 и гранта Президента РФ (МК-881.2010.4).

## **ВЛИЯНИЕ ДЕФИЦИТА МАКРОЭЛЕМЕНТОВ НА СИНТЕЗ ПОЛИФЕНОЛОВ В ПРОРОСТКАХ ТИМОФЕЕВКИ ЛУГОВОЙ (*Phleum pretense L.*)**

Федураев П.В., Чупахина Г.Н., Скрыпник Л.Н.

Российский Государственный Университет им. И. Канта; ул. Университетская, 2, 236040, Калининград, тел. (4012)533263, факс (4012)533707

E-mail: [pavelf15@mail.ru](mailto:pavelf15@mail.ru) (Федураеву П.В.), [tchoupakhina@mail.ru](mailto:tchoupakhina@mail.ru) (Чупахиной Г.Н.), [skr\\_sun@mail.ru](mailto:skr_sun@mail.ru) (Скрыпник Л.Н.)

Для изучения влияния макроэлементов (НРК) на биосинтез флавоноидов в качестве объектов исследования использовали проростки Тимофеевки луговой, выращенной на перлите. Полив растений осуществлялся питательным раствором, содержащим макро- и микроэлементы. В зависимости от обеспеченности макроэлементами растения были разделены на четыре группы: 1) контроль (достаточное количество макроэлементов); 2) дефицит азота; 3) дефицит калия; 4) дефицит фосфора. Анализ растений производили на 17-й и 30-й день после всходов. В растениях определялись антоцианы, лейкоантоцианы и катехины.

В результате проведенных исследований было установлено, что уровень антоцианов напрямую зависит от баланса минерального питания. Так, по сравнению с контролем уровень биофлавоноидов в пробах с обедненным содержанием азота и фосфора снижался, тогда как в пробе, где калий присутствовал в дефиците, уровень антоцианов был значительно выше, чем в контроле. Однако данные, полученные на 30-й день после всхода, показывают увеличение уровня антоцианов у проб с недостатком фосфора и азота, в то время как содержание внепластидных пигментов в пробах с недостаточным содержанием калия снизилось.

Исследование влияния макроэлементов на уровень лейкоантоцианов показало, что на первом этапе исследований дефицит калия не влиял на увеличение концентрации флаван-3,4-диолов. В то время как пробы с пониженным содержанием азота практически не отличались от контрольной пробы. Однако, спустя две недели, недостаток фосфора положительно сказался на уровне лейкоантоцианов в растениях, а недостаток азота и калия не повлияли на биосинтез лейкоантоцианов, и их концентрация оказалась ниже, чем в контрольной пробе.

Была выявлена связь между уровнем катехинов и минеральным питанием растений. Дефицит фосфора, приводил к увеличению уровня флаван-3-олов в первый день проведения анализов, в то время как в пробах обедненных азотом и калием уровень не превышал показателей контроля.

Таким образом, установлено, что дефицит калия стимулировал образование антоцианов, тогда как дефицит фосфора приводил к накоплению лейкоантоцианов и катехинов.

## **ВЛИЯНИЕ КАПСУЛИРОВАННЫХ УДОБРЕНИЙ НА СОДЕРЖАНИЕ ФОСФОРА И БЕЛКА В ПРОРОСТКАХ РАСТЕНИЙ ПРИ РОСТЕ НА СУБСТРАТАХ ПОРОДНОГО ОТВАЛА УГОЛЬНЫХ ШАХТ**

Фецко З.М., Баранов В.И., Мыкиевыч И.М.

Львовский национальный университет им.И.Франка ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина

e-mail: [zirka\\_blb2@ukr.net](mailto:zirka_blb2@ukr.net) (Фецко З.М.)

Водные стоки и ветровая эрозия породных отвалов угольных шахт негативно влияют на экологическое состояние окружающей среды и несут в себе опасность здоровью населения. Грунтовый субстрат отвалов, в частности отвал Центральной обогатительной фабрики Червоноградского района Львовской области, имеет неблагоприятные эдафические условия для роста большинства растений. С целью возобновления плодородия субстратов отвала были испытаны две формы минеральных удобрений при выращивании растений конского боба и озимого рапса. В качестве удобрений использовались традиционная (NAF) и капсулированная гидролизным лигнином и глауконитом (CAPS) нитроаммофоски из расчета 2 и 1 г/кг субстрата соответственно, которые вносили в субстраты породного отвала (черного – неперегоревшего и красного – перегоревшего). В результате исследований установлено, что содержание фосфора у растений на красной и черной породах без использования удобрений было на уровне контроля – растений на торфяной почве. При использовании удобрений содержание фосфора у 14 суточных проростков бобов конских снижалось на черной и на красной породах при добавлении CAPS, что на 19% и 13% меньше контрольных вариантов, а при использовании традиционного удобрения наблюдалось увеличение его содержания на 20% на черной породе и 5% на красной.

Содержание фосфора в проростках рапса озимого было большим на 19% на черной породе с добавлением NAF чем его содержание у проростков на торфе и на 11% - у растений, выращенных на черной породе без добавления удобрений. У проростков на красной породе существенных отклонений от контрольного варианта не наблюдалось. В вариантах

с использованием CAPS содержание фосфора у растений на обоих видах пород было на уровне контрольных растений.

Содержание белка в проростках бобов конских, которые выращивали на данных почвах с использованием удобрений увеличивалось в проростках растений на красной породе при использовании как капсулированной, так и традиционной нитроаммофоски по сравнению с контрольными образцами. В проростках рапса при использовании CAPS содержание белка увеличивалось у растений, которые росли на черной и красной породах относительно контрольного варианта. При внесении NAF содержание белка увеличивалось у проростков на красной и уменьшалось на черной породе. Корреляция между содержанием белка и фосфора наблюдалась у конских бобов при росте на черной породе при использовании капсулированных удобрений, а также у рапса озимого на красной породе при использовании традиционной нитроаммофоски, что указывает на селективность применения удобрений в зависимости от типа субстрата.

## **БАРЬЕРНЫЕ СВОЙСТВА МЕМБРАН СВОБОДНОЖИВУЩИХ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ ЛЮПИНА И ЛЮЦЕРНЫ И СООТВЕТСТВУЮЩИХ ИМ СИМБИОСОМ И БАКТЕРОИДОВ ДЛЯ $\text{Na}^+$ И $\text{Cl}^-$**

Хайлова Г.Ф., Андреев И.М.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая 35, 127276 Москва, тел.: (495) 9779218, факс: (495)9778018

E-mail: [Lhalilova@mail.ru](mailto:Lhalilova@mail.ru) (Халиловой Л.А.).

Изучали способность мембран микросимбионта обеспечивать солеустойчивость симбиотической системы бобовых. С этой целью сравнивали ионную проницаемость мембран бактерий со слабой (50 мМ NaCl – *Bradyrhizobium lupini*) и относительно высокой (400 мМ NaCl – *Sinorhizobium meliloti*) солеустойчивостью. Определялась проницаемость для  $\text{Na}^+$  цитоплазматических мембран свободноживущей и симбиотизирующей форм ризобий, а также перибактероидной мембраны (ПБМ) симбиосом клубеньков люпина и люцерны. Показано, что содержание  $\text{Na}^+$  в клетках чистых культур обоих видов ризобий возрастает по мере увеличения концентрации соли в питательной среде. Несмотря на то, что эти два вида ризобий отличаются по солеустойчивости, их цитоплазматические мембраны были одинаково легко проницаемы для  $\text{Na}^+$ . Во фракциях симбиосом и бактериоидов содержание  $\text{Na}^+$  возрастало с увеличением концентрации соли в инкубационной среде.

Следовательно, мембраны микросимбионтов как люпина, так и люцерны, не могут служить надежным барьером для поступления  $\text{Na}^+$  внутрь их клеток. ПБМ симбиосом данных бобовых также является слабым барьером для  $\text{Cl}^-$ . Добавление АТФ к суспензии симбиосом из клубеньков люпина и люцерны вызывало генерацию электрического потенциала ( $\Delta\phi$ ) на ПБМ. Последующее внесение в инкубационную среду одновалентных проникающих ионов ( $\text{NO}_3^-$  и  $\text{Cl}^-$ ) приводило к диссипации  $\Delta\phi$  на ПБМ. Время полураспада  $\Delta\phi$  для симбиосом клубеньков обоих видов бобовых было одинаковым. Полученные результаты позволяют заключить, что функционирование азотфиксирующей симбиотической системы люпина и люцерны в условиях солевого стресса обусловлено либо низкой чувствительностью к  $\text{NaCl}$  биополимеров микросимбионта, либо способностью растения хозяина поддерживать ионный гомеостаз в клетках центральной ткани клубенька.

## **ПОЛУЧЕНИЕ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ТОМАТА (*Solanum lycopersicum* L.) С ПОВЫШЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ФИТОФТОРОЗУ**

Халилуев М.Р.<sup>1</sup>, Мамонов А.Г.<sup>2</sup>, Смирнов А.Н.<sup>2</sup>, Долгов С.В.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Всероссийский НИИ сельскохозяйственной биотехнологии  
Россельхозакадемии; ул. Тимирязевская, 42, 127550 Москва, тел.: (495)9766544,  
факс: (495)9770947

<sup>2</sup> ФГОУ ВПО Российский государственный аграрный университет – МСХА  
им. К.А. Тимирязева; ул. Тимирязевская, 49, 127550 Москва, тел.: (495)9763490,  
факс: (495)9760482

<sup>3</sup> Филиал института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина  
и Ю.А. Овчинникова РАН; Проспект Науки, 6, 142290 Московская область,  
Пушино, тел.: (4967)733749, факс: (4967)330527

E-mail: [marat131084@rambler.ru](mailto:marat131084@rambler.ru) (Халилуеву М.Р.)

В рамках исследования проведена агробактериальная трансформация томата селекционной линии ЯЛФ (любезно предоставлена Монахосом Г.Ф.) бинарными векторами, содержащими гены хитин-связывающих белков и антимикробных пептидов (любезно предоставлены Бабаковым А.В., Луниным В.Г. и Гулевичем А.А.). Бинарные векторы pB1121ac и pR830 содержат, соответственно, хитин-связывающий ген *ac* из *Amaranthus caudatus* и гибридный ген *RS-intron-Shir*, кодирующий сигнальную последовательность и первые шесть аминокислот дефензина редьки (*Rs*) с интроном и хитин-связывающий белок из *Amaranthus retroflexus* (*Shir*). Бинарный вектор pB-AMP2 содержит ген *amp2*, кодирующий лидерный пептид, два антимикробных пептида (*SmAMP1* и

SmAMP2), разделённых спейсером, и С-концевую часть из звездчатки (*Stellaria media*). В отличие от рВ-AMP2, несущего полную копию кДНК гена звездчатки, рВ-AMP1 содержит ген *amp1*, кодирующий только лидерную последовательность и один из антимикробных пептидов (SmAMP1). В результате получено 6, 10, 11 и 13 растений, трансформированных, соответственно, конструкциями рВ121ас, рR830, рВ-AMP2 и рВ-AMP1, с подтверждённой интеграцией целевого и маркерного генов методом ПЦР. Эффективность трансформации при использовании эксплантов семядолей составила, соответственно, 6,7, 8,4, 8,8 и 11,3%. Растения были адаптированы к условиям *in vivo* и выращены в условиях защищенного грунта. Оценку устойчивости к фитофторозу проводили методом искусственного заражения отделенных листьев, полученных от взрослых вегетирующих растений. Инокуляцию осуществляли зооспорангиями десяти суточной культурой трех изолятов *Phytophthora infestans*, два из которых были выделены из плодов и листьев томата, а третий – из листьев картофеля сорта Ильинский. Проанализировано по пять растений T<sub>0</sub> с каждым защитным геном и контрольный образец. Установлено, что при инокуляции растительной ткани изолятом, выделенным из листьев картофеля, три растения, содержащие ген *ас*, три растения, содержащие ген *amp2*, и одно растение, содержащее ген *amp1*, достоверно отличались повышенной устойчивостью по сравнению с контролем.

## **УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ *Coronaria flos-cuculi* К ВЫСОКИМ КОНЦЕНТРАЦИЯМ МЕДИ В СРЕДЕ**

Холодова В.П.\*, Киселева И.С.\*\*\*, Иванова Е.М.\*, Волкова А.С.\*, Кузнецов Вл.В.\*

\* Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева РАН, 117276, Москва, ул. Ботаническая 35, тел. (495)977 9254, факс (495)977 8018.

\*\* Уральский государственный университет им. А.М. Горького, 620083 Екатеринбург, ул. Ленина 51, тел. (343) 261 6685, факс (343) 350 7401

Медь является одним из наиболее токсичных тяжелых металлов, однако изучению механизмов ее детоксикации в растениях препятствует ограниченность числа видов, устойчивых к высоким концентрациям меди, особенно удобных для экспериментирования. Семена растений *Coronaria flos-cuculi* (L.) A.Braun (сем. Caryophyllaceae) собрали на территории с содержанием Cu в верхнем гумусовом горизонте почвы 170-530 мкг/г (Свердловская область).

Растения для опытов выращивали в водной культуре на модифицированной среде Хогланда-Снайдерс (без ЭДТА). Растения в возрасте 7 недель подвергали в течение 20 дней воздействию CuSO<sub>4</sub> в концентрации 100, 200, 250 и 300

мкМ (контроль – 0.25 мкМ  $\text{CuSO}_4$ ). За время опыта растения сформировали хорошо развитую розеточную форму, свежая масса контрольных растений превышала 5 г/растение, не опускаясь ниже 1.6 г/растение при максимальной концентрации меди. Наблюдалось заметное снижение оводненности тканей листьев (на 3.5-5.3%). После 20 дней роста на среде с 100 мкМ  $\text{CuSO}_4$  сухая биомасса листьев 1 растения достигла 2/3 от контроля, при более высоких концентрациях меди не снижалась более чем на 43-50% от контроля. Сильнее сказалось токсическое действие высоких концентраций меди на рост корней, сухая биомасса которых к концу опыта составляла не более 1/3 биомассы растений контрольного варианта. Аккумуляция меди достигла 552 мкг/г сухой массы листьев, что превосходило концентрацию в контрольном варианте более чем в 60 раз и свидетельствовало о весьма высокой аккумулирующей способности изучаемого растения. Хотя фактор транслокации (отношение концентрации  $\text{Cu}$  в листьях к концентрации в корнях) не превышал 0.24, он сохранялся на уровне контроля (0.20). Особенно существенен тот факт, что, учитывая умеренное токсическое действие на рост, общее содержание  $\text{Cu}$  в листьях до 40 раз превосходило ее содержание в массе корней. Таким образом, растения *C. flos-cuculi*, выращенные из семян с обогащенных  $\text{Cu}$  почв, обладают довольно высокой устойчивостью к избытку  $\text{Cu}$  в среде, накапливая значительное ее количество в надземных органах. Эти особенности делают растения этого экотипа *C. flos-cuculi* весьма перспективным объектом как для изучения физиологических и молекулярных механизмов устойчивости к  $\text{Cu}$ , так и для использования в целях фиторемедиации.

Работа поддержана грантами РФФИ 10-04-00799-а, 08-04-90111-Мол\_a и Программы Президиума РАН “Молекулярная и клеточная биология”.

## **ВЛИЯНИЕ ЗАКАЛИВАНИЯ НА ЭКОФИЗИОЛОГИЧЕСКУЮ ХАРАКТЕРИСТИКУ АМАРАНТА**

Холопцева Е.С.\*, Дроздов С.Н.\* , Коломейченко В.В.\*\*

\* Учреждение Российской академии наук Институт биологии Карельского научного центра РАН; ул. Пушкинская, 11, 185910 Петрозаводск, тел: (8142)762712, факс: (8142)769810

\*\* Орловский государственный агроуниверситет, ул. Генерала Родина, 69, 302033 Орел  
E-mail: [holoitseva@krc.karelia.ru](mailto:holoitseva@krc.karelia.ru) (Холопцевой Е.С.)

Амарант – щирица – ведет свое происхождение из Южной Америки, где растет самое большое количество его видов, разновидностей и форм.

Амарант – древняя культура, которая в течение восьми тысячелетий кормила население американского континента. В России первые исследования этой культуры были начаты по инициативе ак. Н.И. Вавилова в 30-х годах прошлого века. Зарубежные данные свидетельствуют о его высокой питательной ценности, урожайности и засухоустойчивости (Железнов, 2005). Успешная интродукция амаранта в нашей стране, особенно в северных регионах, требует дальнейшего изучения его эколого-физиологической характеристики, как на видовом, так и на внутривидовом уровнях. Одним из методов ее изучения на конкретной фазе развития растения является определение интенсивности ведущих факторов внешней среды, обеспечивающих оптимальный уровень одного из основополагающих физиологических процессов, чутко реагирующих на условия внешней среды. Физиологическим процессом, отвечающим указанным требованиям, является  $\text{CO}_2$ -обмен интактных растений, который хорошо дистанционно контролируется и чутко реагирует на изменения внешней среды.

Задачей данной работы было изучение влияния закаливания интактных растений амаранта на их экофизиологическую характеристику путем определения параметров света и температуры, обеспечивающих достижение потенциального максимума и зоны оптимума их видимого фотосинтеза.

Исследования проводили с двумя видами амаранта: багряный с. Султан и овощной с. Крепыш. Растения выращивали до фазы 6-7 листа в регулируемых условиях среды и закаливали при 8 и 10°C. Далее в многофакторном 10-ти точечном планируемом эксперименте определяли влияние света и температуры на интенсивность видимого фотосинтеза (Курец и др., 2009).

Обработка экспериментальных данных методом множественного регрессионного анализа позволила получить модели взаимосвязи растений с температурой и освещенностью. Анализ модели численными методами показал, что потенциальный максимум нетто-фотосинтеза исследуемых растений находится на уровне 37,5 мг/гч и достигается при 36,8°C и 459 Вт/м<sup>2</sup> у с. Султан и при 31,5°C и 393 Вт/м<sup>2</sup> у с. Крепыш. Холодовое закаливание амаранта привело к резкому снижению уровня потенциального максимума и значительному уменьшению напряженности факторов среды, обеспечивающих его достижение: у с. Султан – до 15,8 мг/гч, при температуре 24,1°C и освещенности 303 Вт/м<sup>2</sup>, а у с. Крепыш – до 10,4 мг/гч при 21,1°C и 323 Вт/м<sup>2</sup> соответственно.



## ЦИТОСКЕЛЕТ ВКЛЮЧАЕТСЯ В РЕГУЛЯЦИЮ ВОДНОЙ ПРОНИЦАЕМОСТИ КЛЕТОК РАСТЕНИЙ ПРИ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОМ СТРЕССЕ

Хохлова Л.П.\*, Олиневич О.В.\*, Бочкарева М.А. \*, Шамон Ф.\*\*

\* Казанский федеральный университет; ул. Кремлевская, 18, 420008 Казань, тел.: (843)2315297, факс: (843)2387421

\*\* Universiti catholique de Louvain; Croix du Sud 2-20 B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium, тел. +(32) – 10 – 478485, факс: +(32) – 10 – 473872

E-mail: [ludmila.khokhlova@ksu.ru](mailto:ludmila.khokhlova@ksu.ru)

Общепринятая концепция цитоскелет-мембранного комплекса, учитывающая взаимодействия плазматической мембраны, эндомембран и цитоскелетных структур – микротрубочек (МТ) и микрофиламентов (МФ), а также ранее полученные нами данные о прямой корреляции между водоудерживающей способностью клеток и холодостабильностью МТ – все это явилось предпосылкой для проведения работы, цель которой заключалась в выяснении зависимости между индуцированными низкими температурами изменениями структурной организации цитоскелета и осмотической водопроницаемости растительных клеток. Объектом исследований служили изолированные протопласты корней кукурузы *Black Mexican Sweet*. МТ и МФ в протопластах визуализировали методом непрямой иммунофлуоресцентной микроскопии с использованием моноклональных первичных и вторичных антител к  $\alpha$ -тубулину и актину. Цитоскелетные белки в экстрактах неочищенной мембранной фракции и цитозоле исследовали методом одномерного электрофореза и иммуноблотинга. Об осмотической водопроницаемости протопластов судили по изменению их относительных объемов в гипо- или гипертонической среде. Коэффициенты осмотической проницаемости ( $P_f$ ) регистрировали на оригинальной автоматизированной системе. Инкубация протопластов при холодовом стрессе (3-8 ч, 4°C) вызывала почти полную деполимеризацию МТ (81,4%) и накопление тубулина вокруг ядра. Число протопластов с разрушенными МФ составляло 51,1%. После холодового стресса отмечено резкое снижение содержания тубулиновых и актиновых белков в мембранной фракции и адекватное увеличение их концентрации в цитозоле. В гипо- (350 mosm) или гипертонической (550 mosm) средах происходило значительное набухание или сжатие обработанных холодом протопластов. Совместное действие таксола и низкой температуры предотвращало вызванную холодом деполимеризацию тубулиновой сети и препятствовало повышению  $P_f$  протопластов. Цитохалазин Д, вызывая частичную

деструкцию актинового цитоскелета и почти полную деградацию тубулинового вместе с уменьшением связанного с мембраной актина, приводил к устойчивому повышению  $P_f$ . Ингибиторы аквапориновых белков (AQP<sub>s</sub>) – флоретин и хлорид ртути достоверно снижали  $P_f$  протопластов после обработки антицитоскелетными агентами или холодовым стрессом. Полученные результаты указывают на функциональную взаимосвязь AQP<sub>s</sub> со структурой цитоскелета. Заключено, что индуцированное низкотемпературным стрессом увеличение осмотической водопроницаемости клеток обуславливается нарушением трансмембранных взаимодействий цитоскелетных белков с плазмалеммой и замедлением процессов экзо- и эндоцитоза AQP<sub>s</sub>-содержащих везикул.

## **АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ ЭНДОГЕННЫХ БРАССИНОСТЕРОИДОВ В КУКУРУЗЕ В УСЛОВИЯХ ТЕМПЕРАТУРНОГО СТРЕССА**

Хрипач В.А.\*, Литвиновская Р.П.\*, Драч С.В.\*, Куртикова А.Л.\*,  
Кравец В.С.\*\*, Кретинин С.В.\*\*, Деревянчук М.В.\*\*

\* Институт биоорганической химии НАН Беларуси, 220141 Минск, ул. Купревича, 5/2, тел.: +375-17-267-86-47

\* Институт биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины, 02660, Киев, ул. Мурманская, 1, тел.: +380-44-573-27-05

E-mail: *khripach@iboch.bas-net.by* (Хрипачу В.А.), *kravets@bpki.kiev.ua* (Кравцу В.С.)

Браassinостероиды (БС), как гормоны растений, обладают широким спектром физиологического действия, контролируют процессы роста и развития растений, включая прорастание семян, развитие вегетативной массы, дифференциацию клеток, созревание пыльцы, апикальное доминирование. Кроме выраженной функции БС в регуляции роста растений они улучшают адаптацию растений к разным стрессам – температурному, солевому, биотическому, а также активизируют процессы роста и развития при стрессовых условиях.

Целью нашего исследования являлся анализ уровня эндогенных браassinостероидов в процессе адаптации растений к низким температурам на примере гибрида кукурузы Говерла МВ. Оптимальная температура для роста и развития кукурузы +28°C, температуры от +15°C до 10°C относятся к области холодового стресса, а 5°C и ниже – повреждающие. Анализ образцов кукурузы проводили с использованием разработанной нами

иммуноферментной тест-системы для определения brassinosterоидов ряда 24-эпибрассинолида (24-эпибрассинолида, 24-эпикастастерона и 24-эпи-6-дезоксокастастерона).

Проведенный анализ содержания brassinosterоидов свидетельствует о вариации уровня эндогенных brassinosterоидов в различных тканях растения. Наименьшие количества обнаружены в проростках, значительно больше содержится в корнях. Самый высокий уровень brassinosterоидов зарегистрирован в эндосперме и зародышах семян.

В условиях действия на растения низкотемпературного стресса выявлено повышение уровня эндогенных brassinosterоидов в первые дни их адаптации к холоду. В проростках кукурузы количество brassinosterоидов увеличилось в два раза по сравнению с исходным уровнем. В корнях в условиях холодого стресса уровень brassinosterоидов резко возрастал в течение первых трех дней, а на седьмые сутки несколько снижался. Полученные результаты указывают на существенные изменения уровня фитогормонов ряда БС в тканях растений в условиях низкотемпературного стресса и их участие в формировании первичных реакций метаболизма клеток на действие низких температур.

Работа выполнена при поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант № Х09К-029) и Государственного Фонда фундаментальных исследований Украины (грант № Ф29.4/019).

## **ВЫДЕЛЕНИЕ И СВОЙСТВА ЦЕЛЛЮЛАЗ КОЛОРАДСКОГО ЖУКА *Leptinotarsa decemlineata* L.**

Цветков В.О., Ибрагимов Р.И., Шпирная И.А., Умаров И.А.

Башкирский государственный университет; ул. Заки Валиди, 32, 450074 Уфа, тел.: (347)2726370, факс:(347)2736778

E-mail: [zvetkovvo@rambler.ru](mailto:zvetkovvo@rambler.ru) (Цветкову В.О.)

Одним из важных факторов стресса для растений являются насекомые-фитофаги, в частности, колорадский жук — основной вредитель пасленовых культур. Гидролитические ферменты играют важную роль во взаимоотношениях вредителя с растением, обеспечивая усвоение полимеров растительной клетки.

Объектом нашего исследования были целлюлолитические ферменты личинок колорадского жука, играющие ведущую роль в переваривании и усвоении тканей растений картофеля.

Для хроматографического выделения ферментов из экстракта тканевого гомогената личинок использовали синтезированный нами аффинный сорбент на основе 16%-го полиакриламида с иммобилизованной карбоксиметилцеллюлозой. После полимеризации сорбент гомогенизировали, отделяли декантацией мелкодисперсную фракцию и выдерживали 10 часов при 37°C в 0,5%-ном глутаровом альдегиде для ковалентного сшивания лиганда с ПААГ. Экстракцию гомогената насекомых проводили в ацетатном буфере (рН 5,6) в течение 30 минут при 4°C, полученный экстракт центрифугировали при 10 тыс. об/мин. в течение 10 мин., супернатант наносили на колонку и выдерживали 20 мин. Элюировали фермент с колонки Трис-НСI-буфером (рН 8,2), затем доводили рН до 5,6 уксусной кислотой. Хроматографию проводили при 4 °С. Содержание фермента в полученном препарате определяли при помощи реакции с субстратом, иммобилизованным в геле агарозы, препарат предварительно концентрировали на сефадексе. В ходе хроматографического выделения происходило увеличение удельной активности фермента в 30-40 раз.

Для определения оптимума рН препарат фермента с соответствующим количеством уксусной кислоты или Трис-НСI выдерживали 10 минут, затем определяли ферментативную активность полученных растворов. Оптимальное значение рН для целлюлаз составило около 5,5, при этом распределение значений активности было унимодальным. Температурный оптимум определяли, выдерживая препараты фермента при различной температуре в течение 10 минут с последующим измерением активности. Оптимум температуры для данных ферментов лежит в диапазоне от 36°C до 42°C.

С помощью SDS-электрофореза по Лэммли определяли молекулярный состав и приблизительное значение молекулярной массы выделенных белков. Белки осаждали в двухкратном объеме ацетона в течение 10 часов при -20°C, электрофорез вели в 10%-ном ПААГ (рН 8,8), гель окрашивали Кумасси R-250. Было показано, что целлюлазы личинок колорадского жука представлены гетерогенной смесью, преобладающим компонентом которой является белок с молекулярной массой около 50 кДа. Также были обнаружены несколько минорных компонентов – два более крупных (около 70 кДа) и четыре более мелких (30-40 кДа).

## **РОЛЬ КАРОТИНОИДОВ В АДАПТАЦИИ ПОБЕГОВ ПШЕНИЦЫ К НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОМУ СТРЕССУ**

Чепалов В.А.\* , Нохсоров В.В.\*\* , Петров К.А.\*

\* Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН; пр. Ленина 41, 677980 Якутск, тел.:(4112)335690, факс:(4112)335812

\*\* Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова; ул. Белинского, 58, 677000 Якутск

E-mail: [kap\\_75@bk.ru](mailto:kap_75@bk.ru) (Петрову К.А.)

Устойчивость растений определяется в основном способностью к быстрым адаптациям, где определенную роль играют низкомолекулярные полиеновые соединения, имеющие систему сопряженных двойных связей – каротиноиды. В силу своих физико-химических свойств они способны создавать оптимальные условия в хлоропластных мембранах фотосинтезирующих клеток.

Для определения каротиноидов использовали метод тонкослойной хроматографии на силикагеле Sorbfil ПТСХ-АФ-В-УФ (Россия) в системе: бензол – ацетон (7:3). В работе использовали 7-дневные растения пшеницы сорта «Приленская 19», выращенные в лабораторных условиях (питательная смесь Гельригеля с четвертичной дозой солей). Изменение содержания индивидуальных каротиноидов побегов пшеницы изучали при холодовом шоке (1, 2, 4 и 6° С) в течении 30 и 180 мин, который создавался с помощью погружения корневой части растений в охлажденную питательную среду в термостате LKB 2219. Судя по нашим данным, холодовой шок (6°С) практически не оказывал заметного влияния на содержание каротиноидов. Однако при 1, 2 и 4° С при 180 мин. в побегах значительно повышалось содержание лютеина+зеаксантина (223.2, 194.7, 165.8%) и β-каротина (144.4, 242.6, 123.7%) соответственно. В целом, холодовой шок (1, 2, 4° С) в течение 30 и 180 мин. приводит к достоверному увеличению содержания как лютеина+зеаксантина, β-каротина, так и общей суммы каротиноидов. При действии низких положительных температур на корни проростков пшеницы в условиях многосуточных вегетационных опытов также наблюдалось повышение содержания кислородсодержащих каротиноидов в их листьях, по сравнению с контролем. В защите незакаленных растений от холодового шока – быстрого снижения температуры – принимают участие системы, возможно, вызывающие термогенез, связанный с локальным повышением температуры (Колесниченко, Войников, 2003). Полученные нами результаты позволяют предположить, что

«фотофизическая» часть фотосинтеза, включающая поглощение энергии света, процессы миграции и преобразования энергии с участием пигментов ксантофиллового цикла, несомненно, принимают участие в механизмах термогенеза, а также имеют большое значение в формировании устойчивости растений к низким положительным температурам.

## **ВЛИЯНИЕ ХИТООЛИГОСАХАРИДОВ, САЛИЦИЛОВОЙ И ЖАСМОНОВОЙ КИСЛОТ И ИХ КОМПОЗИЦИЙ НА КОМПОНЕНТЫ ПРО/АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ПШЕНИЦЫ ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ *Septoria nodorum***

Черепанова Е.А., Нужная Т.В.

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и генетики  
Уфимского научного центра РАН; пр. Октября, 71, 450054 Уфа,  
тел./факс: (437)2356088

E-mail: [k\\_cherepanova@mail.ru](mailto:k_cherepanova@mail.ru) (Черепановой Е.А.)

Проводили предпосевную обработку семян мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Башкирская 24 растворами салициловой кислоты (СК), жасмоновой кислоты (ЖК), хитоолигосахаридов (ХОС) и их композиций. Исследовали влияние обработок на активность каталазы, пероксидазы и генерацию перекиси водорода в листьях 10-сут проростков пшеницы в норме и при инфицировании 7-сут. проростков возбудителем септориоза (*Septoria nodorum* Berk) на 3 сутки после инфицирования. Контролем служили необработанные растения. Исходя из полученных результатов, можно сделать вывод о том, что обработка сигнальными молекулами, и в особенности их сочетаниями, существенно повышает содержание перекиси водорода в инфицированных тканях растений, что может играть решающую роль для своевременной их защиты от патогена. Инфицирование в большинстве случаев приводило к повышению уровня каталазы. Однако в обработанных ЖК, ХОС и ЖК+ХОС листьях разница между инфицированными и неинфицированными листьями практически была не заметна. СК и её композиция с ЖК приводили к существенному падению каталазной активности в незараженных листьях, тогда как при инфицировании они были сравнимы с контролем. Вероятно, это связано с ингибирующим действием СК на каталазу в норме, а при инфицировании в растении запускается целый каскад реакций, который по действию может

перекрывать этот эффект. Обработка растений композициями СК и ЖК с хитоолигосахаридами приводила к повышению активности пероксидазы как в инфицированных, так и в неинфицированных растениях. Как известно, данный фермент играет важную роль в формировании устойчивости растений к инфицированию, а обработка препаратами с сигнальными молекулами поспособствовала индукции защитных реакций, что подтверждается и визуальными наблюдениями - площадь инфекционных пятен на листьях предобработанных растений была в несколько раз меньше, чем в контроле. Из всех рассмотренных композиций для практического применения в качестве основы для защитных препаратов биогенного происхождения нам наиболее перспективной представляется композиция ЖК+ХОС, показавшая самый высокий иммуностимулирующий эффект.

Работа поддержана госконтрактом Минобрнауки № 339 «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009-2013гг.».

## **ПРОТЕКТОРНОЕ ВЛИЯНИЕ ЦИТОКИНИНОВЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ФОТОСИНТЕЗ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ ВОДНОГО ДЕФИЦИТА**

Чернядьев И.И.\* , Монахова О.Ф.\*\*

\* Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Ленинский просп.,33, 119071 Москва, тел.: (495)954-14-73.

\*\* Институт физиологии растений им.К.А.Тимирязева РАН, ул. Ботаническая, 35, 127276 Москва, тел.: (499)231-83-15

E-mail: [ichernyadev@yandex.ru](mailto:ichernyadev@yandex.ru)

Продуктивность сельскохозяйственных растений во многом определяется состоянием их фотосинтетического аппарата, для защиты которого в условиях стресса успешно используют препараты с цитокининовой активностью. В настоящей работе при создании водного дефицита и последующей регидратации у молодых проростков и листьев взрослых растений двух сортов пшеницы (*Triticum aestivum* L.) Мироновская 808 (более устойчивый) и Лютеценс 758 (менее устойчивый к водному стрессу) сравнивали защитное влияние на фотосинтетический аппарат препаратов картолина (N-изопропоксикарбонил-о-4-хлорфенилкарбомоил-этаноламин, картолин-2), (0-изопропил-N-2-оксиэтилкарбамат, картолин-4) и других обладающих высокой цитокининовой активностью соединений – 6-бензиламинопурина

(БАП) и тидиазурона (N-фенил-N-1,2,3-тидиазолил-5-мочевина). Обнаружили, что как при постепенно нарастающей засухе, так и при последующей регидратации наибольшим защитным влиянием обладали препараты картолина, способствуя меньшему падению интенсивности фотосинтетической ассимиляции углекислоты, карбоксилирующей активности ключевого фермента углеродного метаболизма – рибулозобисфосфаткарбоксилазы/оксигеназы (КФ 4.1.1.39) и активности НАДФ-глицеральдегидфосфатдегидрогеназы, представляющей ферментный комплекс из фосфоглицераткиназы (КФ 2.7.2.3) и глицеральдегидфосфатдегидрогеназы (КФ 1.2.1.13). Активность фосфоенолпируваткарбоксилазы (КФ 4.1.1.31) изменялась в меньшей степени. Препараты картолина, БАП и тидиазурон способствовали повышению удельной плотности листа и возрастанию зерновой продуктивности растений. Увеличивалось число зерен в колосе, масса зерен с одного растения, масса 1000 зерен и суммарный урожай. Негативное влияние водного дефицита на фотосинтетический аппарат пшеницы было сильнее выражено у менее устойчивого сорта Лютесценс 758, а также у проростков по сравнению с листьями взрослых растений. Использование цитокининовых препаратов в этих условиях способствует установлению нормального баланса фитогормонов, создавая в клетках и тканях наиболее благоприятные условия для адаптации к водному стрессу.

## **ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ ЛИЛЕЙНИКОВ И ПЕНСПЕМОН К АЭРОГЕННЫМ ЭМИССИЯМ ГОРНО-ОБОГАТИТЕЛЬНОГО ПРЕДПРИЯТИЯ**

Чипиляк Т.Ф., Машталер Н.В., Гришко В.Н.

Криворожский ботанический сад НАН Украины ул. Маршака 50, 50089 Кривой Рог, тел. (056)384922, факс: (056)384922

E-mail: [yav-mashtaler@rambler.ru](mailto:yav-mashtaler@rambler.ru) (Машталер Н.В.)

Изучение адаптационных возможностей представителей родовых комплексов *Hemerocallis* L. та *Penstemon* Schmidel на физиолого-биохимическом уровне позволит более широко использовать их в озеленении промышленных городов степной зоны Украины. Целью работы являлось установление особенностей аккумуляции тяжелых металлов, развития свободнорадикальных реакций и содержания пигментов в ассимиляционном аппарате пенстемонов и лилейников под



влиянием выбросов горно-обогатительного предприятия. Объектами исследований были *Hemerocallis lilioasphodellus* L. *H. middendorffii* Trautv. et. Mey, *H. x hybrida* hort. cv.: American Revolution, Stagecoach, Winnie the Pooh та *Penstemon arizonicus* A. Heller, *P. cobeia* (Nutt.) Grosswhite, *P. digitalis* Benth, *P. laevigatus* Soland i *P. venustus* Dougl. Исследования проводились на промплощадке рудообогатительной фабрики ОАО «Северной горно-обогатительный комбинат» (г.Кривой Рог) и коллекциях Криворожского ботанического сада НАН Украины (условный контроль). Проведенные исследования уровня загрязнения показали, что на промышленной площадке количество пылевых осадков за сутки почти в 7 раз превышает условный контроль. Причем, в твердых выбросах содержится в 5 раз больше железа и в 2 раза никеля, тогда как содержание цинка и свинца превышает соответствующие показатели для участка коллекций Криворожского ботанического сада НАН Украины, более чем на 20%. Загрязнения промышленной площадки приводят к значительной аккумуляции тяжелых металлов в листьях как лилейников, так и пенстемон. Полученные результаты показали, что среди пенстемон наиболее высокий уровень транслокации в листьях таких высокотоксических элементов, как кадмий, цинк и свинец имеют *P. arisonicus*, *P. venustus* и *P. laevigatus*, тогда как у лилейников – *H. middendorffii* и cv. Stagecoach. Такая же закономерность прослеживается и при анализе аккумуляций соединений железа и никеля, которые относятся к классу менее токсических элементов. На этом фоне у данных видов и сортов более интенсивно развиваются свободнорадикальные процессы ПОЛ, о чем свидетельствует возрастание в 1,5-3,8 раза количества ТБК-активных продуктов в листьях. В то же время у лилейников наблюдается уменьшение количества как хлорофиллов, так и суммы каротиноидов, тогда как у пенстемонов – при уменьшении количества хлорофилла «а» и «b» происходит увеличение содержания каротиноидов. Учитывая роль каротиноидов в формировании антиоксидантного потенциала растений, установленные различные тенденции в изменении их количества могут обуславливать различную физиологическую устойчивость культиваров.

Работа выполнена в рамках проекта № 63-10 «Транслокация тяжелых металлов и фтора в системе «почва-растение» и повышение устойчивости растений при действии абиотических факторов» целевой комплексной междисциплинарной программы научных исследований НАН Украины.

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ УГЛЕВОДСВЯЗЫВАЮЩИХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ГЕНОВ ЛЕКТИНОВ РАСТЕНИЙ РОДА ЧИНА (*Lathyrus*)

Чубукова О.В., Баймиев Ал.Х.

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра; Пр.Октября,71, 450054, Уфа, тел.: (3472)356088, факс: (3472)356088.

E-mail: [chubukova@bk.ru](mailto:chubukova@bk.ru)

Лектины – это белки, способные обратимо и избирательно связывать углеводы. Многочисленные исследования показывают, что функции лектинов чрезвычайно разнообразны, однако их точная биологическая роль не известна. Предполагается, что одной из функций лектинов является адаптация растения к различным стрессовым факторам. Особый интерес представляет исследование лектинов бобовых растений, которые, по-видимому, играют важную роль в становлении бобово-ризобиального симбиоза.

Были подобраны и синтезированы олигонуклеотидные праймеры к высококонсервативным областям лектинов бобовых растений. С применением этих праймеров нами были амплифицированы фрагменты генов лектинов длиной ~260-280 п.н. из трех видов бобовых растений, относящихся к одному роду *Lathyrus* (чина) – *L. vernus*, *L. palustris* и *L. gmelinii*. Полученные фрагменты, кодирующие углеводсвязывающие последовательности (УСП) лектинов, были клонированы и секвенированы. Сравнительный анализ показал значительную гетерогенность нуклеотидного и аминокислотного состава секвенированных участков генов лектинов для каждого из трех видов. Таким образом, у каждого из растения – *L. vernus*, *L. palustris* и *L. gmelinii*, было обнаружено по три существенно различающихся между собой гена лектина, зарегистрированные под номерами NM535223, NM537146, NM537149, HQ009291, NM449113-14, NM371325, NM371328-29, соответственно. Дивергенция секвенированных нами генов лектинов составляет для *L. vernus* от 7.3% до 23.3%, для *L. palustris* от 5.9% до 16.8%, для *L. gmelinii* от 3.9% до 10.1%. На филогенетическом древе аминокислотных и нуклеотидных последовательностей УСП лектинов бобовых исследованные растения образуют компактный кластер с другими родами, относящимися к трибе Vicia (*Lens*, *Pisum*, *Vicia*).

## ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ВОДНЫХ МАКРОФИТОВ С РАЗЛИЧНОЙ АККУМУЛЯТИВНОЙ СПОСОБНОСТЬЮ

Чукина Н.В., Борисова Г.Г., Малева М.Г.

Уральский государственный университет им. А. М. Горького; пр. Ленина 51, 620083 Екатеринбург, тел: (343)2616685, факс: (343)3507401

E-mail: [nady\\_dicusar@mail.ru](mailto:nady_dicusar@mail.ru) (Чукиной Н.В.)

Водные макрофиты являются важным звеном пресноводных экосистем. Благодаря тесной связи с водной средой они быстро реагируют на изменение ее состава. Способность этих организмов накапливать поллютанты в значительных количествах свидетельствует об их устойчивости к загрязнению водной среды, которая во многом определяется функционированием системы антиоксидантной защиты. Весьма актуальными являются исследования антиоксидантной системы у водных растений с различной аккумулятивной способностью из природных местообитаний.

Целью наших исследований стало изучение антиоксидантного статуса водных макрофитов в связи с их аккумулятивной способностью.

Объектами исследования явились плавающие и погруженные виды высших водных растений, обитающие в водотоках Свердловской области с разной степенью антропогенной нагрузки.

Исследование антиоксидантного статуса растений включало: определение активности ферментов антиоксидантной защиты, таких как супероксиддисмутаза (СОД), гваякол-специфичная пероксидаза и каталаза, а также содержания низкомолекулярных антиоксидантов (глутатион, аскорбиновая кислота, пролин, флавоноиды и каротиноиды).

Полученные нами данные по аккумуляции тяжелых металлов показали, что среди исследованных водных растений выделяются виды с двумя противоположными «аккумулятивными стратегиями». Такие виды как *Batrachium trichophyllum*, *Ceratophyllum demersum*, *Lemna gibba* отличались высокой аккумулятивной способностью по отношению к тяжелым металлам, напротив, для видов *Sagittaria sagittifolia* и *Potamogeton alpinus* отмечена наиболее низкая способность накапливать металлы даже при повышенном их содержании в водной среде. Результаты проведенных исследований показали, что виды, обладающие высокой накопительной способностью, отличались высокими значениями активности ферментов антиоксидантов (СОД), для них также отмечено повышенное содержание низкомолекулярных антиоксидантов. Например, в листьях *Lemna gibba* обнаружено наибольшее содержание пролина, высокое содержание аскорбиновой кислоты и

глутатиона. *Ceratophyllum demersum* отличался максимальным содержанием глутатиона и высоким содержанием аскорбиновой кислоты и пролина. Модельные опыты показали, что индуцированный стресс у растений с высокой аккумулятивной способностью приводил к повышению синтеза водорастворимых антиоксидантов. Напротив, у видов-отражателей повышенные концентрации металлов в среде оказывали выраженное токсическое действие.

Таким образом, проведенные исследования показали, что у растений с высокой накопительной способностью имеются более совершенные механизмы защиты от окислительного стресса, обеспечивающие их повышенную устойчивость к загрязнению вод тяжелыми металлами.

## **ВЛИЯНИЕ КАДМИЯ РАЗЛИЧНОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ НА РОСТОВЫЕ ПРОЦЕССЫ И ПИГМЕНТНЫЙ АППАРАТ ПРОРОСТКОВ ТИМОФЕЕВКИ ЛУГОВОЙ (*Phleum pratense L.*)**

Чупахина Г.Н., Мальцева Е.Ю., Скрыпник Л.Н.

Российский государственный университет им. И. Канта; ул. Университетская, 2, 236040 Калининград, тел.: (4012)533263, факс: (4012)533707

E-mail: [lenokmalec@rambler.ru](mailto:lenokmalec@rambler.ru) (Мальцевой Е.Ю.)

Среди неорганических загрязнителей окружающей среды одними из наиболее токсичных являются тяжелые металлы. Целью работы явилось изучение влияния кадмия различной концентрации (от 0,05 до 500 мкмоль/л) на ростовые процессы и содержание желтых и зеленых пигментов в проростках тимофеевки луговой.

В качестве объекта исследования использовали растение семейства злаковые (*Poaceae* Barnh.) тимофеевку луговую (*Phleum pratense L.*). Семена растений проращивали в чашках Петри с различной концентрацией раствора хлорида кадмия (0,05; 0,5; 5; 50; 100; 250; 400; 500 мкмоль/л). В качестве контроля были выбраны растения выращенные на бидистиллированной воде. В работе использовали кадмий хлористый ч.д.а. ГОСТ 4330-76. Количественное определение проводилось на спектрофотометре с последующим расчетом по формуле Хольма:

Изучение влияния различных концентраций кадмия на прорастание семян тимофеевки луговой показало, что уже незначительные концентрации кадмия приводили к снижению процента прорастания семян в 1,5-2 раза. Более высокие концентрации кадмия (100-500 мкмоль/л) снижали процент

прорастания в 6 и более раз. Концентрация в 1500 мкмоль/л полностью ингибировала прорастание семян тимофеевки луговой.

Как показали результаты исследований влияния различных концентраций кадмия на длину проростков тимофеевки луговой, выращивание растений на растворах, содержащих данный тяжелый металл, приводило к замедлению их роста. При концентрации 500 мкмоль/л длина проростков тимофеевки луговой была более чем в 5 раз меньше по сравнению с контрольными растениями.

Как показали исследования по изучению влияния различных концентраций кадмия (от 0,05 до 250 мкмоль/л) на уровень желтых и зеленых пигментов в проростках тимофеевки луговой, уровень каротиноидов и хлорофиллов практически не изменялся при увеличении концентрации тяжелого металла. Уровень каротиноидов находился в пределах 0,19-0,22 мг/г (контроль – 0,19 мг/г), хлорофилла *a* – 0,61-0,72 мг/г (контроль – 0,65 мг/г), хлорофилла *b* – 0,24-0,30 мг/г (контроль – 0,24 мг/г). Более высокие концентрации кадмия (400-500 мкмоль/л) настолько сильно ингибировали рост растений, что это не позволило взять необходимую для проведения анализа навеску.

Таким образом, в ходе работы было установлено, что высокие концентрации кадмия (100-500 мкмоль/л) ингибировали ростовые процессы. Однако уровень хлорофиллов и каротиноидов не менялся в присутствии растворов кадмия от 0,05 до 250 мкмоль/л.

## **УЧАСТИЕ 24-ЭПИБРАССИНОЛИДА В РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА *PR-1* В ПРОРОСТКАХ ПШЕНИЦЫ**

Шакирова Ф.М., Авальбаев А.М., Ласточкина О.В., Сахабутдинова А.Р., Юлдашев Р.А., Постригань Б.Н.

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН; пр. Октября, 71, 450054 Уфа, тел.: (347)2356088, факс: (347)2356088

E-mail: [shakirova@anrb.ru](mailto:shakirova@anrb.ru) (Шакировой Ф.М.)

Важная роль в регуляции антистрессовых физиологических программ в растениях принадлежит brassиностероидам (БС) – фитогормонам стероидной природы, которые принимают участие в формировании устойчивости растений к нарушению температурного режима, обезвоживанию, воздействию ионов тяжелых металлов. В наших исследованиях было выявлено, что обработка растений пшеницы 24-эпибрассинолидом (ЭБ), активным представителем

брасиностероидов, снижает повреждающее действие дефицита влаги, вызванного засолением и засухой, на рост проростков пшеницы. Между тем, существует много данных об индуцировании БС защитных реакций, направленных на формирование устойчивости к патогенам. В связи с этим, было интересно исследовать влияние ЭБ на экспрессию гена *PR-1*, белковый продукт которого принадлежит к семейству патогенез-связанных (PR) белков, накапливающихся в растениях в ответ на инфицирование патогенными микроорганизмами. Методом ПЦР в режиме реального времени было установлено, что обработка ЭБ проростков пшеницы стимулирует экспрессию *PR-1* гена. Данный факт свидетельствует о вовлечении белка PR-1 в индуцированную ЭБ устойчивость растений пшеницы к биотическому стрессу. Вместе с тем, ранее в нашей лаборатории были получены данные о проявлении чувствительности гена *PR-1* также и к АБК, которая играет ключевую роль в адаптации растений к неблагоприятным факторам разной природы. При этом интересно отметить, что анализ влияния ЭБ на гормональный баланс растений пшеницы не выявил каких-либо изменений в содержании эндогенной АБК, что дало нам возможность предположить существование АБК-независимой ЭБ-регулируемой индукции экспрессии *PR-1* гена в проростках пшеницы. Присутствие флуридона, эффективного ингибитора АБК, в среде инкубирования проростков на ЭБ не снизило уровень стимулирующего действия гормона на транскрипцию гена *PR-1*, что подтвердило наше предположение. Таким образом, нами впервые выявлена АБК-независимая регуляция *PR-1* гена пшеницы 24-эпибрасинолидом, что свидетельствует о наличии альтернативных путей регуляции экспрессии этого гена и развития устойчивости к биотическому стрессу в растениях пшеницы.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 08-04-01563.

## **УСТРАНЕНИЕ УГЛЕВОДОРОДНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПОЧВ ПРИЕМАМИ ФИТОБИОРЕМЕДИАЦИИ**

Швец А.А., Белоусов В.С.

ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт биологической защиты растений Россельхозакадемии; 350039 Краснодар-39 ВНИИБЗР, тел.:(861)2282103, факс: (861)2281787

E-mail: [aashvec@mail.ru](mailto:aashvec@mail.ru) (Швец А.А.)

Нефтяное загрязнение почв является наиболее опасными антропогенным воздействием на биосферу за всю историю

хозяйственной деятельности человека. У растений существуют очень слабые защитные механизмы для нейтрализации токсинов, однако как показывает мировой опыт, технологии фитобиоремедиации с использованием растительно-микробных ассоциаций являются наиболее действенными и эффективными с экологической точки зрения в восстановлении плодородия нарушенных земель. Использование растений в биореставрации загрязненных почв не может быть основано на использовании монокультур, которые не обладают свойствами самоподдержания и эффективного длительного воздействия на окружающую среду. Агрофитоценозы различной продуктивности и архитектоники, состоящие из (*Lolium multiflorum* Lam + *Trifolium pratense*) и (*Festuca pratensis* Huds + *Dactylis glomerata* (L.)) показали высокую биогенность в условиях сильного загрязнения легкой и тяжелой нефтью почв различных генетических типов Западного Предкавказья (черноземы выщелоченные и обыкновенные, темно-серые лесные, луговые слабозасоленные). Восстановление продуктивности почв под действием агрофитоценозов в зависимости от типа почв происходит на третий-четвертый год. Снижение, содержание нефти так же определяется типом почвы и составляет 69-84%.

К четвертому году наблюдений продуктивности изучаемых ценозов достигая продуктивности на чистой почве, хотя в первый год угнетение составило 40-75%. Отмечена высокая токсичность тяжелой нефти на ценозе *Festuca pratensis* Huds + *Dactylis glomerata* (L.), посеянном на темно-серой лесной почве и вегетировавшим только два года.

## **МУЛЬТИБЕЛКОВЫЕ КОМПЛЕКСЫ ПЛАЗМАЛЕММЫ, СОДЕРЖАЩИЕ РІР-АКВАПОРИНЫ**

Шевырева Т.А., Белугин Б.В., Трофимова М.С.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая 35, 127276, Москва, тел.: (499)2318377, факс: (495)9778018

E-mail: [shevyreva@yandex.ru](mailto:shevyreva@yandex.ru) (Шевырева Т.А.)

Эффективность адаптации растения к стрессу может регулироваться на различных уровнях организации живой материи. В последние годы появились исследования, посвященные механизмам стрессоустойчивости на уровне мембран, в том числе, за счет формирования мультибелковых комплексов. Вместе с тем, о составе

и функционировании таких комплексов в плазмалемме растений известно очень мало. В настоящей работе была предпринята попытка выделить белковые комплексы плазматической мембраны, содержащие PIP-аквапорины – белки, формирующие в мембранах водные каналы, и определить их сродство к стерин-обогащенным доменам плазмалеммы. Для этого изолированные из побегов 5-дневных проростков гороха плазматические мембраны обрабатывали неионными детергентами, различающимися по способности солюбилизовать мембранные стерины: дигитонином, Тритоном X-100 и додецилмальтозидом. Первый из них удаляет эти липиды из мембран, второй не солюбилизует их, а эффективность третьего в отношении солюбилизации стеринов имеет промежуточное значение. По степени солюбилизации PIP-аквапоринов тем или иным детергентом судили об их липидном окружении. Полученные образцы разделяли на белковые комплексы методом голубого нативного электрофореза с последующим делением их на отдельные белки в денатурирующих условиях по Laemmli. Аквапорины PIP-типа идентифицировали с помощью вестерн-блот анализа. Сначала, применив денатурирующий электрофорез, было показано, что все используемые в работе детергенты солюбилизируют аквапорины PIP-типа. При этом наибольшее их содержание было в дигитонин-солюбилизированной фракции, а наименьшее – в Тритон-солюбилизуемой. Это свидетельствует о том, что, PIP-аквапорины встречаются в мембранных доменах с различным липидным составом, но преимущественно – в стерин-обогащенных структурах плазмалеммы. После проведения голубого нативного электрофореза в мембранных фракциях, солюбилизированных додецилмальтозидом и Тритоном X-100 был обнаружен PIP-аквапорин-содержащий белковый комплекс с молекулярной массой около 440 кДа. Разделение препарата плазматических мембран, солюбилизированных дигитонином, выявило 3 комплекса белков с молекулярной массой около 600, 500 и 300 кДа, содержащих аквапорины. Пока не ясно, существуют ли эти комплексы в плазматических мембранах *in vivo*, или мы наблюдаем разную степень разрушения одного и того же комплекса. Таким образом, мультибелковые комплексы плазмалеммы, содержащие PIP-аквапорины, различаются по своему размеру и сродству к стерин-обогащенным доменам плазматической мембраны, однако в чем состоит физиологическое значение такого разнообразия пока непонятно.



## ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ СВОБОДНЫХ И КОНЬЮГИРОВАННЫХ ФОРМ ПОЛИАМИНОВ В ФОРМИРОВАНИИ СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННЫХ СИСТЕМ УСТОЙЧИВОСТИ

Шевякова Н. И., Стеценко Л. А.

Учреждение Российской академии наук Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева РАН; ул. Ботаническая, 35, 127276 Москва, тел.: (499)2318355, факс: (495)9778018

E-mail: [larstet@mail.ru](mailto:larstet@mail.ru) (Стеценко Л.А.)

Обнаружен новый механизм защиты белков от окислительной деградации в условиях засоления, состоящий в накоплении  $\text{HClO}_4$ -нерастворимого конъюгата – 1.3-диаминопропана (ДАП), в листьях растений *Phaseolus vulgaris* L., который в свободной форме образуется при окислении высокомолекулярных полиаминов (спермидина и спермина) при солевом стрессе. Исследовали особенности участия полиаминов (ПА) в процессе адаптации к засолению у растений гликофитного типа. Растения *Phaseolus vulgaris* L. в фазе образования первичных листьев в течение 4 сут произрастали в водной культуре в присутствии различных концентраций NaCl (0, 50, 100, 150 и 200 мМ). В диапазоне концентраций соли 50-100 мМ в среде у растений не были отмечены какие-либо симптомы угнетения роста, но, начиная с концентрации 150 мМ NaCl, начиналось резкое снижение роста растений и накопления биомассы. В полном соответствии с поддержанием растениями в солевых условиях (50-100 мМ NaCl) и нормального физиологического состояния в листьях наблюдали накопление свободных и конъюгированных форм ( $\text{HClO}_4$ -растворимых и  $\text{HClO}_4$ -нерастворимых) ПА: путресцина, кадаверина, спермидина и в большей степени спермина. При действии угнетающих рост концентраций соли (150 мМ и 200 мМ) происходило резкое снижение их содержания, за исключением спермина. В корнях, наоборот, в присутствии в среде 50 и 100 мМ NaCl количество свободных ПА путресцинового ряда снижалось, а при 150 и 200 мМ NaCl наблюдалось увеличение их содержания. В отличие от исследованного ранее нами галофита (*Mesembryanthemum crystallinum* L.), в листьях фасоли при засолении обнаружено накопление  $\text{HClO}_4$ -нерастворимого конъюгата ДАП, который в свободной форме образуется как продукт окислительной деградации высокомолекулярных спермидина и спермина, что составило 35 нмоль/г свежей массы при концентрации соли в питательной среде 100 мМ. Более того, хотя его содержание снизилось при ростугнетающей концентрации соли (150 мМ), но, тем не менее, составило вполне ощутимое количество (10 нмоль/г свежей массы.).

Полученные данные по содержанию свободных и конъюгированных форм ПА свидетельствуют, что растения фасоли как представитель неустойчивой к засолению группы растений-гликофитов способны адаптироваться к NaCl подобно галофитам с участием ПА, но в гораздо более узких пределах засоления. При этом отличительной особенностью растений фасоли является включение в адаптивный процесс продукта окислительной деградации высокомолекулярных полиаминов – 1.3-ДАП, который накапливается в листьях исключительно в форме  $\text{HClO}_4$ -нерастворимого конъюгата. Вполне вероятно, что найденный механизм адаптации обусловлен высоким содержанием белка у бобовых и направлен на защиту именно белковых молекул от окислительной деградации в стрессовых условиях.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 10-04-00799-а, 10-04-90417-Укр\_а и Программы Президиума РАН “Молекулярная и клеточная биология”.

## **ПОВЫШЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ ЯЧМЕНЯ (*Hordeum vulgare* L.) К ТОКСИЧНОСТИ АЛЮМИНИЯ ПУТЁМ КЛЕТОЧНОЙ СЕЛЕКЦИИ**

Широких И.Г.\*, Шуплецова О.Н.\*, Огородникова С.Ю.\*\*

\* Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Северо-Востока РАСХН, ул. Ленина 166а, 610007 г. Киров, тел.:(8332)331026, факс:(8332)331025

\*\* Институт биологии Коми НЦ Уральского отделения РАН, ул. Свободы 122, 610000 г. Киров, тел., факс:(8332)370277

E-mail: [irgenal@mail.ru](mailto:irgenal@mail.ru) (Широких И.Г.)

В каллусной культуре ячменя из сортов 999-93 и 637-98 на кислых селективных средах с алюминием отобраны устойчивые линии, из которых получены растения-регенеранты. В провокационных условиях кислой (рНсол. 4,1, подвижный алюминий - 4,72 мг/100 г) дерново-подзолистой почвы проведено сравнительное изучение семенного потомства регенерантных линий (R) с исходными сортами по биохимическим показателям, тестирующим проявление симптомов окислительного стресса, продуктивным признакам и урожаю.

Сопоставление результатов биохимического тестирования с урожайными данными показало, что наибольшей устойчивостью к стрессу отличалась регенерантная линия R637-98. На это указывают более низкая, чем у исходного сорта, интенсивность перекисного окисления

липидов (ПОЛ) в течение всей вегетации, отсутствие падения уровня хлорофилла, низкий уровень выхода электролитов, стабильное содержание антоцианов и, как результат, более высокая (на 17%) урожайность. По компонентам урожая у регенерантной линии наблюдали в сравнении с исходной формой увеличение показателей длины главного колоса, общей и продуктивной кустистости. У другой превзошедшей исходную форму по урожайности (на 15%) регенерантной линии R999-93 симптомы окислительного стресса, тестируемого как по повреждению мембран, так и по деструкции хлорофилла, были выражены сильнее, чем у сорта. Как и ожидалось, это имело своим следствием снижение его продуктивности: масса зерна с растения исходного сорта составила в среднем  $1,9 \pm 0,5$  г, тогда как у регенеранта - только  $1,4 \pm 0,5$  г. Причиной более высокой урожайности регенерантной линии R999-93 явилась, очевидно, её хорошая выживаемость в условиях алюминиевого стресса, особенно на ранних стадиях онтогенеза. Полевая всхожесть (97,8%) и сохранность растений к уборке (336 шт./кв. м) у регенеранта R999-93 были существенно выше, чем у сорта (91,2% и 264 шт./кв. м). Это обеспечило более высокую плотность стеблестоя и, соответственно, более высокий сбор урожая с единицы площади, несмотря на снижение продуктивности отдельно взятого растения. Выявленные при испытании семенных потомств регенерантов изменения биохимических показателей и продуктивных признаков растений указывают на их генетическую природу и могут являться следствием соматоклональной изменчивости, возникшей в каллусной культуре и обнаруженной в результате использования селективных систем на основе токсичных концентраций ионов алюминия. Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности использования клеточных технологий в селекционных программах на алюмоустойчивость.

## **РЕАКЦИЯ СОРТОВ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ (*Triticum aestivum* L.) НА ОБРАБОТКУ 6-БАП В УСЛОВИЯХ ВОДНОГО ДЕФИЦИТА**

Широкова Н.П.

Омский государственный педагогический университет, наб. Тухачевского, 14,  
644099 Омск, тел.: (3812)231322

E-mail: [Natalivita@mail.ru](mailto:Natalivita@mail.ru)

Одним из основных факторов внешней среды, лимитирующих рост и урожайность растений, является засуха. В ходе эволюции растения

выработали уникальную способность адаптироваться к биотическим и абиотическим стрессам, которая позволяет им приспосабливаться к постоянно меняющимся условиям окружающей среды. Известно, что одной из важных систем эндогенной регуляции и координации физиологических процессов растительного организма является гормональная. Целью настоящей работы явилось изучение действия 6-бензиламинопурина (БАП) на физиологические процессы растений двух сортов яровой пшеницы (Омская 23 и Росинка) в условиях засухи и в репарационный период. Растения пшеницы выращивались в почвенной культуре на разном фоне водоснабжения: влажность почвы в сосудах поддерживалась на уровне 30% (засуха) и 60% (достаточный уровень водоснабжения) от полной влагоемкости. В фазу трубкования растения обрабатывались БАП в концентрации  $4,4 \times 10^{-5}$  М, через два дня после обработки нормы полива растений были восстановлены (репарационный период). Через семь дней репарационного периода растения вновь переводили на разный уровень водоснабжения и выращивали на разном фоне водоснабжения до конца вегетационного периода. Проведенные исследования показали, что обработка бензиламинопурином в условиях достаточного водоснабжения способствовала увеличению интенсивности транспирации и водного дефицита, повышала содержание хлорофиллов a+b в листьях растений, способствовала увеличению площади листьев и колоса, количества и массы зерна колоса у обоих исследуемых сортов пшеницы. В условиях недостаточного водоснабжения под влиянием БАП также усиливалось испарение воды с поверхности листьев, чуть выше интенсивность транспирации была у растений сорта Омская 23. В засушливые периоды в листьях растений, обработанных БАП, наблюдалось более высокое содержание хлорофиллов a+b, чем в листьях необработанных растений. В данном случае цитокинин способствовал сохранению содержания хлорофилла у растений в условиях стресса. Однако обработка бензиламинопурином в условиях водного дефицита не оказала влияние на сохранение урожая пшеницы. В условиях стресса у растений пшеницы не сформировались зерна. Но здесь нужно отметить сортовые различия: у растений пшеницы сорта Росинка сформировался колос, а у пшеницы сорта Омская 23 этого не произошло. У растений данных сортов пшеницы, обработанных БАП, произошло образование колоса, но зерна в колосе также не сформировались. В репарационный период наблюдались сортовые различия в восстановлении физиологических процессов. Процессы репарации у растений пшеницы сорта Омская 23 лучше проходили под действием БАП, а у растений сорта Росинка эти процессы протекали лучше без обработки цитокинином. Таким образом, проведенные исследования могут свидетельствовать о том, что бензиламинопурин способствует

стабилизации метаболизма растений в условиях водного дефицита и в период репарации, но действие синтетического гормона зависит от сорта, концентрации и сроков обработки.

## **ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ $\text{Cl}^-/\text{H}^+$ -АНТИПОРТЕРА В МЕМБРАННОЙ ФРАКЦИИ, ОБОГАЩЕННОЙ ПЛАЗМАЛЕММОЙ ИЗ КЛЕТОК КОРНЕЙ ГАЛОФИТА *SUAEDA ALTISSIMA* (L.) PALL.**

Шувалов А.В., Орлова Ю.В., Андреев И.М., Мясоедов Н.А., Балнокин Ю.В.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая, 35, 127276 Москва, тел.: (495)9779218

E-mail: [laurisen1243@mail.ru](mailto:laurisen1243@mail.ru) (Шувалову А.В.), [balnokin@mail.ru](mailto:balnokin@mail.ru) (Балнокину Ю.В.)

До настоящего времени остается неизвестным, какие белки вовлечены в активный транспорт  $\text{Cl}^-$  из цитоплазмы растительных клеток. Наиболее вероятным претендентом на эту роль у галофитов является  $\text{Cl}^-/\text{H}^+$ -антипортер, относящиеся к семейству CLC  $\text{Cl}^-$ -транспортирующих белков. Настоящее исследование посвящено выявлению  $\text{Cl}^-/\text{H}^+$ -антипортера в клетках корня галофита *S. altissima*. Исследование проведено на мембранной фракции, обогащенной инвертированными везикулами плазмалеммы. Основной подход в идентификации  $\text{Cl}^-/\text{H}^+$ -антипортера состоял в регистрации  $\Delta\text{pCl}$ -зависимого транспорта  $\text{H}^+$  через мембрану. Выход протонов из везикул регистрировали двумя методами. Первый метод основан на предварительной генерации трансмембранного концентрационного градиента протонов ( $\Delta\text{pH}$ ) с более кислыми значениями pH внутри везикул. Такой направленности  $\Delta\text{pH}$  создавали путем внесения  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -обменника моненсина в суспензию нагруженных ионами  $\text{Na}^+$  везикул. Обнаружение  $\Delta\text{pCl}$ -зависимой диссипации  $\Delta\text{pH}$ , происходящей вследствие  $\text{Cl}^-/\text{H}^+$ -обмена через антипортер, регистрировали по изменению дифференциальной абсорбции проникающего в везикулы оптического индикатора  $\Delta\text{pH}$ , акридинового оранжевого. Второй метод, не требующий предварительной генерации  $\Delta\text{pH}$ , основан на регистрации защелачивания везикулярного люмена по возрастанию интенсивности флуоресценции pH-индикатора пиранина, загруженного в везикулы. Изучение электрогенных свойств  $\text{Cl}^-/\text{H}^+$ -антипортера осуществляли путем регистрации трансмембранного электрического потенциала ( $\Delta\psi$ ) на везикулярной мембране по изменению дифференциальной абсорбции индикаторов  $\Delta\psi$ , сафранина O и оксонола VI. Создание на везикулярной мембране концентрационного градиента  $\text{Cl}^-$ , направленного из среды внутрь везикул, приводило к защелачиванию везикулярного люмена, что свидетельствовало

о переносе  $H^+$  из везикул наружу. При этом на мембране генерировался электрический потенциал, отрицательный внутри везикул. Электрический потенциал со знаком «минус» внутри может быть движущей силой для переноса  $H^+$  из среды внутрь везикул, но не в противоположном направлении, как это наблюдалось в эксперименте.  $\Delta pCl$ -зависимые потоки  $H^+$  через везикулярную мембрану зависели от наложенного на мембрану электрического потенциала. Посредством гиперосмотического шока везикулы нагружали ионами  $K^+$ . При более высоких концентрациях  $K^+$  в среде, чем в везикулярном люмене, в присутствии  $K^+$ -ионофора валиномицина генерировался трансмембранный диффузионный калиевый потенциал со знаком «плюс» внутри везикул, при более низких концентрациях  $K^+$  снаружи, чем внутри, – со знаком «минус» внутри везикул.  $\Delta pCl$ -зависимые потоки  $H^+$  из везикул возрастали при положительных значениях (внутри везикул) потенциала и снижались при отрицательных значениях. Совокупность полученных данных свидетельствует о функционировании в мембранах клеток корня галофита *S. altissima*  $Cl^-/H^+$ -антипортера.

Работа поддержана грантом РФФИ № 09-04-00-709-а

## **ГЕТЕРОГЕННОСТЬ РАСПРОСТРАНЕНИЯ *Haloxylon aphyllum* (CHENOPODIACEAE) НА ЗАСОЛЕННЫХ ПОЧВАХ ПУСТЫНИ КЫЗЫЛКУМ**

Шуйская Е.В.<sup>1</sup>, Гисматуллина Л.Г.<sup>2</sup>, Тодерич К.Н.<sup>2</sup>, Воронин П.Ю.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Учреждение Российской академии наук Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, ул. Ботаническая, 35, 127276, Москва, тел.: (495)2318363, факс: (495)9778018

<sup>2</sup> Комплексный научно-исследовательский Институт Региональных Проблем, Самаркандское Отделение АН РУз., ул. Т. Малик, 3, 140100, г. Самарканд, Узбекистан, тел.: 8(3662)331994, факс: 8(3662)310039

E-mail: evshuya@mail.ru (Шуйской Е.В.), lfonton@gmail.com, pavel@ippras.ru

*Haloxylon aphyllum* (Minkw.) Ijijn, Chenopodiaceae (саксаул безлистный, чёрный) является одним из основных эдификаторов пустыни Кызылкум, образуя огромные, протяженностью в десятки километров, популяции. Тем не менее, этот вид локализуется в основном в низменных частях микрорельефа. Такая избирательность его распространения представляется удивительной с учётом наивысшей среди растений устойчивостью к ариднему климату видов с NADP-МЕ типом  $C_4$ -фотосинтеза. В условиях постоянства регионального климата главным фактором формирования популяций саксаула представляется усиление засоления почвы при понижении

рельефа местности. В связи с этим, целью данной работы было выяснить роль почвенного фактора в гетерогенности распространения *H. aphyllum* на засоленных почвах Кызылкума. Растительный материал был собран в двух популяциях *H. aphyllum*. Уровень содержания ионов натрия ( $\text{Na}^+$ ) в фотосинтезирующих органах *H. aphyllum* и в трёх горизонтах (0-20 см, 20-40 см и 40-60 см) почвы определяли в водной вытяжке пробы (100 мг) на атомно-абсорбционном спектрофотометре. На территории каждой популяции было выделено по 3 участка с различным ( $0.3 \div 3.7$ ,  $47 \div 90$ ,  $195 \div 207$  ммоль  $\text{Na}^+/\text{г}$ ) засолением почвы. У растений саксаула всех субпопуляций содержание натрия в фотосинтезирующих органах, а значит и их водный потенциал, было постоянным ( $2840 \pm 159$  ммоль  $\text{Na}^+/\text{г}$  сухой массы). В таком случае доступность влаги для растения обеспечивает относительно более высокий водный потенциал почвы. В качестве критерия оптимальности условий произрастания *H. aphyllum*, его физиологической нормы реакции на стресс, был принят наивысший уровень генетической изменчивости. Материалом для исследований послужили семена, собранные с 10-25 отдельных растений с каждого участка (субпопуляции). Выборка включала 50-147 семян для каждой субпопуляции. Электрофорез 7 ферментов: GOT (Е.С.2.6.1.1), DIA (Е.С.1.6.4.3), GDH (Е.С.1.4.1.2), SOD (1.15.1.1), G6PD (Е.С.1.1.1.49), 6PGD (1.1.1.44), PGM (Е.С. 5.4.2.2) выявил 9 локусов, 5 из которых были полиморфными в исследованных популяциях и представлены 2-3 аллелями с разной частотой. В обеих популяциях наивысший уровень генетической изменчивости ( $H_o = 0.21 \div 0.25$ ,  $H_e = 0.25 \div 0.27$ ) отмечали при средней степени засоления. В случае слабого и сильного почвенного засоления гетерозиготность в субпопуляциях была существенно ниже ( $H_o = 0.03 \div 0.11$ ,  $H_e = 0.08 \div 0.14$ ). Поэтому именно такое сочетание среднего засоления и сухости почвы определяет оптимум для произрастания *H. aphyllum* на засоленных почвах пустыни Кызылкум.

## **ВЛИЯНИЕ СТЕРОИДНОГО ГЛИКОЗИДА ИЗ СЕМЯН ТОМАТОВ НА РАЗВИТИЕ ЗАЩИТНЫХ РЕАКЦИЙ ПШЕНИЦЫ ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ ГРИБНЫМИ ПАТОГЕНАМИ**

Шуканов В.П., Манжелесова Н.Е., Полянская С.Н., Полякова Н.В., Корытько Л.А.

ГНУ "Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича" НАН Беларуси, ул. Академическая, 27, г. Минск, 220072, Беларусь, тел.: (37517)2840543, факс (37517)2841853  
E-mail: [patphysio@mail.ru](mailto:patphysio@mail.ru) (Манжелесовой Н.Е.)

Применение природных фиторосторегуляторов-адаптогенов, стимулирующих способность растительного организма противостоять

внутренним и внешним факторам стресса имеет неоспоримое преимущество перед использованием синтетических (неприродных) защитных веществ с точки зрения экологической безопасности и сохранения биоразнообразия. Действие адаптогенов, компенсирующих влияние стресса, многопланово. Они улучшают динамику физиолого-биохимических реакций, повышают уровень неспецифического иммунного ответа, устойчивость организма к неблагоприятным факторам окружающей среды. Это позволяет смягчить ударную нагрузку на организм в начальной фазе стресса и продлить фазу адаптации к длительно воздействующим факторам на необходимое, в идеале неограниченное время. Целью работы является изучение действия регулятора роста и развития растений стероидной природы, выделенного из семян томата, на активирование защитных физиолого-биохимических реакций, усиливающих способность растительного организма противостоять внедрению фитопатогенной инфекции. В полевом опыте исследовали влияние томатызида на выход водно-растворимых веществ, содержание ТБК-продуктов и фотосинтетических пигментов в листьях растений яровой пшеницы, а также определяли его влияние на степень поражения растений возбудителями листовых болезней. Опрыскивание растений по вегетирующей массе в фазу конец кущения фиторегулятором-адаптогеном в дозе 1 мг/л и 10 мг/л приводило к незначительному (на 10-15%) увеличению содержания фотосинтетических пигментов в листьях только сразу после обработки. Далее вплоть до фазы созревания, количество пигментов в листьях в варианте с обработкой томатызидом в низкой дозе было снижено и повышалось только к концу цветения, высокая доза вещества мало влияла на этот показатель. Выход водно-растворимых веществ из листьев под влиянием томатызида в концентрации 10 мг/л уменьшался по мере прохождения фаз развития растений и в конце фазы цветения составил 51% в сравнении с контролем. Применение соединения в низкой дозировке не выявило тенденции при влиянии на этот показатель. Содержание ТБК-продуктов в листьях под влиянием томатызида в концентрации 1 мг/л снижалось по сравнению с контролем в среднем на 20% до фазы цветения, которая наоборот, характеризовалась повышением их количества. Содержание ТБК-продуктов в листьях растений в варианте с обработкой томатызидом в высокой дозировке было пониженным по сравнению с контролем в течение всей вегетации растений в среднем на 30%. Таким образом, обработка посевов пшеницы фиторегулятором-адаптогеном томатызидом в дозе 10 мг/л обеспечивала биохимическую защиту растений, снижая отрицательное воздействие патогенов (степень поражения растений уменьшалась на 10%).



## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ ПРЕИМУЩЕСТВА СОРНЫХ РАСТЕНИЙ В УСТОЙЧИВОСТИ К БИОТИЧЕСКОМУ СТРЕССУ НА ПРИМЕРЕ РАСТЕНИЯ *Stellaria media*

Шукуров Р.Р.<sup>1</sup>, Вобликова В.Д.<sup>1</sup>, Никонорова А.К.<sup>1</sup>, Егоров Ц.А.<sup>2</sup>, Бабаков А.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ГНУ Всероссийский научно исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии РАСХН; 127550 Москва, ул. Тимирязевская, 42; тел.: (495)9766544, факс: (495)9770947

<sup>2</sup> Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН; 117997 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10; тел.: (495)3350100, факс: (495)3350812

E-mail: [anamezon@bk.ru](mailto:anamezon@bk.ru) (Шукурову Р.Р.)

Одним из механизмов устойчивости растений биотическому стрессу является синтез пептидов, обладающих высокой антигрибной активностью. Обычно в растениях синтезируются пропептиды, из которых в процессе матурации удаляются лидерный, С-концевой пептиды и освобождается пептид с определенным спектром биологической активности. Нами в качестве объектов исследования были выбраны сорные растения, произрастающие вместе с культурными и подвергающиеся действию идентичных фитопатогенов. Оказалось, что в одном из их видов, а именно, в *Stellaria media*, существует особый тип биосинтеза антигрибных пептидов, заключающийся в высвобождении из одного пропептида двух пептидов SmAMP1 и SmAMP2. Показано, что эти пептиды обладают высокой антигрибной активностью и специфичностью действия по отношению к разным видам фитопатогенных грибов, а также что экспрессия их генов тканеспецифична и существенно возрастает при взаимодействии *S. media* с патогеном. Установлено, что передача сигнала от патогена к растению происходит с участием жасмоновой кислоты. Для выяснения фундаментальной роли кодирования одним геном двух антимикробных пептидов в устойчивости этого сорного растения, нами были протрансформированы растения *Arabidopsis thaliana* тремя генетическими конструкциями - одна с полной копией гена *SmAMP1*, остальные две – с различными фрагментами этого гена. Оказалось, что экспрессия целевого гена *SmAMP* с нативной структурой синтезируемого пропептида приводит к наибольшему увеличению устойчивости трансгенных растений к фитопатогенным грибам и наиболее высокому уровню экспрессии, что свидетельствует в пользу стабильности мРНК гена *SmAMP1* в растениях. Таким образом, уникальная структура генов *S. media*, обеспечивающая одновременный синтез антимикробных пептидов

с разным спектром антигрибной активности, высокая стабильность кодирующей их мРНК и индуцируемая экспрессия под воздействием фитопатогенов, по-видимому, дает этому растению ряд преимуществ в устойчивости к биотическому стрессу.

## **ПОВЫШЕНИЕ УРОВНЯ СОМАТИЧЕСКОГО ЭМБРИОГЕНЕЗА ЯЧМЕНЯ (*Hordeum vulgare* L.) НА СЕЛЕКТИВНЫХ СРЕДАХ**

Шуплецова О.Н.

Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Северо-Востока РАСХН, ул. Ленина, 166а, 610007 г. Киров, тел.: (8332)331026, факс: (8332)331025

E-mail: [irgenal@mail.ru](mailto:irgenal@mail.ru) (Шуплецова О.Н.)

Отбор изолированных клеток и тканей растений на селективных питательных средах дает возможность получать в короткие сроки растения, устойчивые к различным неблагоприятным факторам среды. Эффективность клеточной селекции, особенно зерновых, во многом определяется способностью культивируемых клеток к регенерации через соматический эмбриогенез. В каллусной культуре ячменя на кислой с алюминием селективной среде морфогенетические процессы идут, в основном, через листовой и корневой органогенезы, а уровень индукции соматического эмбриогенеза, который ведет к наиболее быстрому образованию растений, недостаточно высок.

Изучали влияние нитрата серебра, пролина, ацетона, абсцизовой кислоты, а также инокуляции каллусной ткани метилобактерией (штамм Tr4 с подтвержденной гормонсинтетической и ассоциативной способностью) на повышение уровня соматического эмбриогенеза ячменя генотипа Дуэт×Биос на кислых средах с алюминием. Проведенные ранее исследования показали способность вышеперечисленных индукторов, несмотря на различие действующих механизмов стимулировать и продлевать регенерационную способность каллусной ткани различных генотипов ячменя на питательных средах без селективного агента.

В стрессовых условиях пролин и бактериальная инокуляция существенно увеличивали (с  $0,6 \pm 0,15$  до  $1,8-2,2 \pm 0,75-1,1$  очагов на один каллус) образование соматических эмбрионидов. Внесение нитрата серебра или абсцизовой кислоты не влияло на этот процесс, однако усиливало закладку листовых структур без стимуляции корнеобразования. В этом случае для индукции корнеобразования их дополнительно культивировали

на «голодных» питательных средах или инкубировали на воде, что затрудняло получение жизнеспособных регенерантов. Ацетон даже в минимальных концентрациях в условиях токсичности алюминия полностью подавлял образование растений.

Введение в состав питательных алюмоселективных сред пролина или использование инокуляции каллусной ткани метиლობактерией штамма Tr4 значительно увеличивало количество и ускоряло развитие регенерантных растений, что позволило снизить себестоимость одного регенеранта в 1,5-1,7 раз. Все эти факторы, в конечном итоге, повышают эффективность клеточной селекции ячменя в этом направлении.

## **ВЛИЯНИЕ СОЛЕЙ ТЯЖЁЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА ЭКССУДАЦИЮ КОРНЕЙ**

Эрлих Н.Т., Жуковская Н.В., Дустаматов А.Г.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая, 35, 127276 Москва, тел.: (499)2318315, факс: (495)9778018

E-mail: ehrlikh\_nt15@rambler.ru

Многие тяжелые металлы (ТМ), такие как железо, медь, цинк, участвуют в биологических процессах и в определенных количествах являются необходимыми для функционирования растений микроэлементами. С другой стороны, тяжёлые металлы и их соединения могут оказывать вредное воздействие на организм растения, способны накапливаться в тканях, вызывая ряд нарушений. В частности, под действием тяжелых металлов нарушается водный статус растения, снижается эффективность осморегуляции вследствие ингибирования поглощения клетками корня ионов. ТМ присутствуют в природных водах, так как входят в состав удобрений и пестицидов и могут попадать в водоемы вместе со стоком с полей. В зависимости от условий среды они существуют в разных степенях окисления и входят в состав разнообразных соединений.

Ранее нами уже было исследовано влияние солей ртути ( $\text{HgCl}_2$ ) и серебра ( $\text{AgNO}_3$ ) на интенсивность эксудации. Было показано стимулирующее воздействие высоких концентраций  $\text{HgCl}_2$  ( $10^{-4}$ - $10^{-3}$  М) на эксудацию. При этом стимуляции предшествовало снижение интенсивности эксудации до 70% по сравнению с контролем.  $\text{HgCl}_2$  в более низких концентрациях снижал интенсивность эксудации. Опыты с  $\text{AgNO}_3$  ( $10^{-6}$  М,  $2 \cdot 10^{-5}$  М,  $10^{-3}$  М) показали, что раствор в концентрации  $10^{-6}$  М усиливает интенсивность эксудации в течение 1 часа примерно на 22%

по сравнению с контролем, через 3 часа стимуляция нивелируется до 15%. Для менее низких концентраций наблюдается ингибирование эксудации. Исследование влияния ТМ на эксудацию было продолжено. Были испытаны соединения элементов I и II групп (Au, Cu, Zn) на интенсивность эксудации. Опыты проводили на отделённых корнях 5-7- дневных этиолированных проростков кукурузы (*Zea mays* L.). Корни проростков помещали в раствор той или иной соли непосредственно перед опытом, показания снимали каждый час в течение 3 часов. Было обнаружено, что тетрахлоратаурат кислоты ( $\text{HAuCl}_4$ ) в концентрациях  $10^{-5}$  и  $10^{-4}$  М увеличивал эксудацию в 3-5 раз. Под воздействием растворов солей цинка и меди ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  и  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  соответственно) в концентрациях  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-3}$  М эксудация не менялась по сравнению с контролем. Раствор одновалентной меди ( $\text{CuCl}$  (I) в концентрациях  $10^{-4}$  и  $10^{-3}$  М увеличивал эксудацию в 4 раза. Однако, это усиление интенсивности эксудации скорее всего было вызвано растворителем – аммиаком. Таким образом, причина усиления эксудации под воздействием  $\text{HAuCl}_4$  и  $\text{AgNO}_3$  остаётся не выясненной. Соли Zn и Cu, по всей видимости, не оказывают заметного влияния на эксудацию.

## **УСТОЙЧИВОСТЬ К ОКИСЛИТЕЛЬНОМУ СТРЕССУ У ЗЕЛЕННЫХ ВОДОРОСЛЕЙ: КОРРЕЛЯЦИЯ С СОДЕРЖАНИЕМ HSP70В/ШАПЕРОНА ХЛОРОПЛАСТОВ**

Юрина Н.П.

Учреждение Российской Академии наук Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН;  
Ленинский пр-т 33, 119071 Москва, тел.: (495)9581070, факс: (495)9542732

E-mail: [NYurina@inbi.ras.ru](mailto:NYurina@inbi.ras.ru)

Устойчивость и адаптация растений к неблагоприятным факторам окружающей среды определяется индукцией защитных систем клетки (репарационной, антиоксидантной, шаперонной и др.) в ответ на стрессовые воздействия. Особое место среди защитных систем занимают белки теплового шока (HSP), являющиеся ключевыми компонентами клеточного гомеостаза как при оптимальных условиях роста, так и в условиях стресса. В ответ на воздействие стрессовых факторов в клетках всех живых организмов индуцируется синтез HSP, которые помогают клеткам выжить в условиях стресса и вернуться к нормальной жизнедеятельности после его прекращения. Белки HSP являются одним из обязательных звеньев неспецифического ответа клеток на повреждение и особенно важны для клеток растений. Среди

различных семейств HSP особая роль в защите клеток от действия стрессов принадлежит белкам HSP70. HSP70/шаперонная система относительно хорошо изучена у бактерий и в большинстве компартментов эукариотической клетки (цитозоле, эндоплазматическом ретикулуме, митохондриях). Однако об HSP70/шаперонной системе хлоропластов известно очень мало. Показано, что HSP70B хлоропластов участвует в биогенезе тилакоидных мембран, принимает участие в процессах репарации, способствуя репарации фотосистемы 2 во время и после фотоингибирования, синтезу или сборке компонентов новых реакционных центров [Schroda, 2004]. Изучение уровня шаперонного белка HSP70B с помощью вестерн-блот анализа у штаммов *Chlamydomonas reinhardtii*, обработанных индуктором окислительного стресса зеоцином, показало, что у штаммов с низкой устойчивостью к окислительному стрессу высокое содержание HSP70B наблюдается уже через 1 ч после обработки зеоцином, а у клеток дикого типа, более устойчивых к окислительному стрессу, через 4 ч. Таким образом, шаперонный белок HSP70B может служить ранним маркером окислительного стресса. Это согласуется с представлением о ключевой роли HSP70 белков в устойчивости растений к стрессам [Huang, Xu, 2008; Timperio et al., 2008]. Для того чтобы выяснить, участвует ли белок хлоропластов HSP70B в устойчивости клеток *Chlorella. vulgaris* к различным температурным условиям, сравнили уровень индукции и содержание HSP70B у психрофильного, мезофильного и термоустойчивого штаммов при тепловой индукции. Сравнение содержания белков HSP70B у этих штаммов *Ch. vulgaris* свидетельствует о том, что повышенное содержание HSP70B является одним из основных факторов, определяющих термотолерантность этой водоросли.

## **ИЗМЕНЕНИЕ ХАРАКТЕРА ВЫДЕЛЕНИЯ ЭТИЛЕНА И РОСТОВЫХ ПАРАМЕТРОВ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ СОРТА СКОРОПЛОДНЫЙ И ЕГО ТРАНСГЕННЫХ ЛИНИЙ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ГЕНЫ ДЕСАТУРАЗ Δ12 ИЗ *SYNECHOCYSTIS* SP. PCC 6308 И Δ9 ИЗ *SYNECHOCOCCUS VULCANUS*, В ОТВЕТ НА ДЕКАПИТАЦИЮ**

Юрьева Н.О., Ракитин В.Ю., Соболюкова Г.И.

Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева РАН, 127276 Москва, ул. Ботаническая, 35

E-mail: [yuorieva@mail.ru](mailto:yuorieva@mail.ru)

Растения выращивали из черенков в пробирках на агаризованной МС среде с 2% сахарозы при +25С° и освещенности 6000 люкс. Через

28 дней у части растений удалили 2 верхних междоузлия. В возрасте 4, 5 и 6 недель у растений исходного сорта картофеля Скороплодный и его трансгенных линий, экспрессирующих гены ацил-липидных десатураз  $\Delta 12$  из *Synechocystis* sp.PCC 6803 и  $\Delta 9$  из *Synechococcus vulcanus* измеряли выделение этилена, а также определяли прирост стебля, начало клубнеобразования и отмирания растений. Выделение этилена у  $\Delta 12$ -трансгенов было более чем в 5 раз выше (0.3 нл/шт.час), а у  $\Delta 9$ -трансгенов в 3 раза ниже (0.03 нл/шт.час), чем у исходного сорта (0.1 нл/шт.час). К 6-ой неделе прирост стебля в длину у  $\Delta 12$ -трансгенов (1.61см) был более чем в 2 раза выше, а у  $\Delta 9$ -трансгенов немного ниже (0.61 см), чем у растений исходного сорта (0.72 см). У декапитированных растений в течение суток наблюдали транзиторный подъем выделения этилена, но затем в течение 2-х недель они выделяли этилена на 30-50% меньше, чем у интактных растений. Клубнеобразование у  $\Delta 12$ -трансгенов начиналось на несколько дней раньше, чем у интактных растений – на 28 сутки. Начало клубнеобразования у декапитированных растений исходного сорта наблюдали на 49 сутки с момента удаления верхушки, у  $\Delta 9$  – на 77 сутки. Интактные растения исходного сорта завязывали клубни на неделю позднее, а  $\Delta 9$ -трансгены – на 3 недели позднее, чем декапитированные. К 56 суткам с момента удаления верхушки 100% растений  $\Delta 12$  отмерло, в то время как растения  $\Delta 9$  и исходного сорта оставались зелёными в течение ещё почти 2-х месяцев.

## **РОЛЬ ФОСФОЛИПАЗЫ D В АКТИВАЦИИ НАДФН-ОКСИДАЗ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ УСТЬИЧНЫХ РЕАКЦИЙ НА ЭКЗОГЕННОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ**

Яковенко О.Н., Калачова Т.А., Кретинин С.В., Кравец В.С.

Институт биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины; ул. Мурманская, 1, 2094 Киев, тел. (044)5732660

E-mail: [yon@bpci.kiev.ua](mailto:yon@bpci.kiev.ua)

Одной из первичных реакций растений на влияние неблагоприятных условий среды и поражение патогенами является быстрое образование активных форм кислорода в клетках участием НАДФН-оксидаз. Однако механизмы регуляции активности НАДФН-оксидаз в клетках растений и влияние липидных медиаторов на эти процессы мало изучены. Фосфолипаза D (ФЛД) принимает участие в регуляции метаболизма

растений при воздействии разнообразных факторов, в том числе активации сигнальных каскадов индуцированных фитогормонами. Нами было исследовано участие ФЛД и НАДФН-оксидаз в трансдукции сигнала салициловой кислоты (СК). С применением радиоизотопного анализа были получены данные об активации фосфолипазы D на ранних этапах (15 мин) воздействия СК. Роль ФЛД в восприятии и передаче сигнала СК в клетках устьиц была показана с помощью 1-бутанола, который ингибировал СК-индуцированное закрытие устьиц, в то время как 2-бутанол не вызывал аналогичной реакции. Ширина устьичной щели растений, обработанных СК и 1-бутанолом, оставалась в два раза больше, чем у контрольных растений, обработанных только СК. Для изучения совместного участия ФЛД и НАДФН-оксидаз в регуляции движения устьиц салициловой кислотой использовали растения *Arabidopsis thaliana* с подавленной экспрессией генов НАДФН-оксидазы RbohD, у которых наблюдалось ослабление реакций устьичной апертуры в ответ на экзогенное внесение салициловой кислоты. Закрытие устьиц растений AtrbohD при внесении  $H_2O_2$  и растений дикого типа в присутствии  $H_2O_2$  и 1-бутанола свидетельствует о каскадном расположении ФЛД и НАДФН-оксидазы как компонентов сигнального пути СК.

Работа выполнена при поддержке Грантов НАН Украины №2.1.10.32-09; №8-10 и Фонда фундаментальных исследований Украины №Ф29.4/019.

## **ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ АДАПТАЦИОННЫХ МЕХАНИЗМОВ У РАЗЛИЧНЫХ ГЕНОТИПОВ ХЛОПЧАТНИКА**

Якубова М.М., Юлдашев Х.Ю., Хамрабаева З.М., Ибрагимова С., Нуоров У., Хомидов Х.

Таджикский национальный университет; пр. Рудаки, 17, 734025, Душанбе.

E-mail: awst2001@mail.ru

Особый интерес представляют проблемы, которые касаются изучения физиологических и биохимических механизмов устойчивости разных генотипов растений, ответственных за адаптацию к стрессовым факторам. В связи с чем важно выявить ответные физиолого-биохимические реакции, оказывающие влияние на обмен веществ, ростовые процессы, а также на биологическую продуктивность того или иного генотипа.

Принимая это во внимание, нами в качестве контрольных объектов исследования были отобраны растения хлопчатника (*Gossypium hirsutum* L.) двух сортов (Мехргон и Зарнигор). Опытными образцами служили растения этих же сортов, выращенные из семян, предварительно подвергнутых обработке электрическим током мощностью 400 кВт в течение 1 минуты.

Была предпринята попытка рассмотреть процессы активации или торможения с количественной стороны, поскольку такой подход возможно ведет к результатам, указывающим на активацию или ингибирование исследованных физиолого-биохимических реакций на воздействие стрессового фактора. В свою очередь выбор различных генотипов одного и того же вида позволит выявить узкие места, ответственные за адаптационные механизмы растения хлопчатника к воздействию экологических факторов.

Исследованы следующие показатели: энергия прорастания, содержание зеленых пластидных пигментов, интенсивность фотосинтеза. В частности, показано, что энергия прорастания обработанных семян хлопчатника у обоих исследованных сортов на 13-15% была выше по сравнению с контролем. Эти данные указывают на воздействие обработки на пусковые механизмы, ответственные за ростовые процессы.

Представляло интерес сравнить показатели интенсивности фотосинтеза и содержание хлорофиллов у обоих исследованных сортов хлопчатника в фазе бутонизации, т.е. в фазе перехода растений из вегетативной фазы развития в генеративную. Выявлено, что интенсивность фотосинтеза в данную фазу у опытных растений обоих сортов была выше, чем у контрольных растений. В то же время следует указать, что по абсолютным значениям данный показатель выше у сорта Зарнигор как у контрольного, так и у опытного варианта по сравнению с сортом Мехргон. По содержанию зеленых пигментов наблюдается следующая тенденция: в исследованной фазе у сорта Мехргон содержание хлорофиллов а и b выше у контроля по сравнению с опытными растениями. У сорта Зарнигор наблюдается обратная закономерность.

Изученные сорта хлопчатника неоднозначно проявляли ответную реакцию по исследованным показателям, что свидетельствует о том, что действие различных стрессовых факторов могут приводить к определенным изменениям метаболических систем, обеспечивающих адаптационные механизмы.



## АФК КАК ФАКТОР РАЗВИТИЯ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ К ПАТОГЕННЫМ ОРГАНИЗМАМ

Яруллина Л.Г.\*, Ибрагимов Р.И.\*\*\*, Шпирная И.А.\*\*\*, Максимов И.В.\*

\* Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН; пр. Октября, 71, 450057, Уфа, тел./факс: (347)2356088

\*\*\* ГОУ ВПО «Башкирский государственный университет»; ул. З. Валиди, 32, 450054, Уфа, тел.: (347)2736871, факс:(347)2736778

E-mail: yarullina@bk.ru

В настоящее время доказано, что важную роль во взаимоотношениях растений и патогенов играют активные формы кислорода (АФК), в том числе перекись водорода. Так, резкое и многократное повышение уровня АФК (оксидативный взрыв) при инфицировании индуцирует в растениях каскад защитных реакций, а их низкая концентрация способствует росту патогенов. Возможно, что развитие или подавление защитных реакций в растительном организме, в первую очередь, зависит от концентрации  $H_2O_2$  в зоне контакта двух противоборствующих организмов.

Цель наших исследований состояла в оценке роли  $H_2O_2$  в развитии устойчивости растений к патогенным грибам и насекомым-фитофагам. Объектами исследования были растения пшеницы (*Triticum aestivum L.*) и картофеля (*Solanum tuberosum L.*), инфицированные возбудителем септориоза *Septoria nodorum* Berk. и личинками колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* Say. Оказалось, что инфицирование растений пшеницы восприимчивого сорта Жница высокоагрессивным штаммом приводило к повышению концентрации  $H_2O_2$  только через 24 ч после инокуляции до  $16,3 \pm 1,2$  мкМ/мг сырой массы. Тогда как в тканях, инфицированных низкоагрессивным штаммом, интенсивная продукция АФК ( $29,8 \pm 2,3$  мкМ/мг) происходила на протяжении 72 ч. В регуляции уровня АФК были задействованы про-/антиоксидантные ферменты растения (оксалаксоксидаза, пероксидаза) и патогена (каталаза).

На следующем этапе исследований в полевых условиях выявлены различия в уровне генерации  $H_2O_2$  и развитии личинок жука *L. decemlineata* на листьях картофеля различных сортов. Обнаружено, что личинки *L. decemlineata* успешно инфицировали листья сорта Невский, в то время как на сорте Башкирский их развитие подавлялось. Исследования показали, что листья картофеля сорта Башкирский и Невский различались по содержанию  $H_2O_2$ , соответственно:  $10,2 \pm 0,94$  и  $7,4 \pm 0,02$  мкМ/мг сырой массы. Причем, повышенная концентрация  $H_2O_2$  в тканях коррелировала с уровнем

антипротеолитической активности. Так, у в листьях сорта Башкирский выявляется высокая активность ингибиторов протеиназ. Клубни и листья сорта Невский характеризовались невысокой ингибиторной активностью. Таким образом, формирование защитного ответа растений пшеницы и картофеля к патогенным грибам и насекомым-вредителям определяется концентрацией АФК в инфицированных тканях.

Работа выполнена при финансовой поддержке АВЦП «Развитие научного потенциала высшей школы» №2.1.1./5676, Минобрнауки НК 542 П\_13, ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы проект № 2010-1.2.1-101-007-018.

# АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

## А – Z

Avalbaev A.M. 7, 10  
Baker C.J. 155  
Belava V.N. 16  
Bliuma D. 8  
Burkovskaya E.V. 9  
Burundukova O.L. 9  
Cheremisina Alexandra 17  
de Boer A.H. 97  
Etienne A.-L. 14  
Fedyayev V.V. 10  
Garmash E.V. 11  
Goss R. 13  
Gruszecki W.I. 12  
Ignatiev A.V. 9  
Ivanov L.A. 9  
Ivanova L.A. 9  
Jemioła-Rzeźmińska M. 13  
Khorosh K. 9  
Khrolenko Yu.A. 9  
Kiselev K.V. 9  
Kuznetsov Vladimir 17  
Latowski D. 13  
Lauve L.S. 9  
Lubyanova A.R. 7  
Makhankov V.V. 9  
Malec P. 11  
Maleva M.G. 11  
Muzarak T.I. 9  
Neverov K.V. 14  
Orekhova T.P. 9  
Paniuta O.O. 16  
Prasad M.N.V. 11  
Rahmankulova Z.F. 10  
Schaller S. 13  
Schat H. 187  
Shakirova F.M. 7, 10  
Shevyakova Nina 17  
Skriptsova A.V. 18  
Somov K.A. 7  
Souer E. 97

Strzalka K. 11, 13  
Taran N.Yu. 16  
Velivetskaya T.A. 9  
Yakovleva I.M. 18  
Yuldashev R.A. 7  
Zeleniy S.B. 16  
Zhuravlev Yu.N. 9

## А

Абдрахимова Й.Р. 19  
Абдулкадырова П.Э. 20  
Абдурахманов А.А. 21  
Абизгильдина Р.Р. 23, 293,  
334, 363  
Абилова Г.А. 24  
Абильфазова Ю.С. 25  
Абрамова Н.Н. 89  
Авальбаев А.М. 389  
Аверьянов А.А. 155  
Аветисян Г.А. 26  
Аветисян Т.В. 43  
Агальцов К.Г. 199  
Азарин К.В. 28  
Акимова Г.П. 331  
Акинчиц Е.К. 29, 89  
Алексеева В.В. 141  
Алексеева Т.Ф. 72  
Алексеева-Попова Н.В. 30, 139  
Алешковский А.В. 135  
Алиева Г.П. 196  
Алиева З.М. 20, 21, 33  
Алиева Земфира М. 32  
Аликадиева Н.М. 98  
Аллахвердиев С.И. 34  
Алобайди Х.Х. 35  
Алыбаева Р.А. 37  
Андреев И.М. 104, 372, 397  
Анохина В.С. 174  
Антипина О.В. 38  
Антонова О.Ю. 312  
Аросланкина Ю.Н. 221

Арсеньев А.С. 77  
Арсланбекова Д.А. 258  
Артамонов В.Д. 94  
Артеменко О.А. 188  
Артюшенко Т.А. 39  
Асафова Е.В. 68  
Астахова Н.В. 40  
Атабаева С.Д. 42

## Б

Бабаков А.В. 97, 150, 211, 255,  
302, 401  
Бабоша А.В. 43  
Багаудинова Л.Ф. 182  
Бажанов Д.П. 153  
Баик А.С. 57  
Баймиев А.Х. 131  
Баймиев Ал.Х. 44, 386  
Баймиев Ан.Х. 44  
Бакакина Ю.С. 46  
Бакланов И.А. 47  
Балнокин Ю.В. 104, 150, 159,  
211, 239, 261, 397  
Бараненко В.В. 48  
Баранов В. 178  
Баранов В.И. 63, 325, 371  
Баранова Е.Н. 50, 193, 255, 320  
Баркалова О.Н. 143  
Батова Ю.В. 51, 170  
Бахтенко Е.Ю. 52, 54  
Бацманова Л.М. 55  
Башмаков Д.И. 308  
Башмакова Е.Б. 35  
Безрукова М.В. 56  
Бейсенова А.Ж. 42  
Белоголова Г.А. 331  
Белозерова Н.С. 57  
Белозерский М.А. 77  
Белоус О.Г. 59  
Белоусов В.С. 60, 390  
Белоциценко Е.С. 61

Белугин Б.В. 391  
Беляев Д.В. 219, 243  
Беляева О.Б. 194  
Бердникова О.С. 144, 145  
Беркут А.А. 259  
Берников Л.Р. 300  
Бешлей С.В. 63  
Беэр А.С. 261  
Благова Д.К. 44  
Боброва З.С. 68  
Бобровницкий Ю.А. 64  
Богданава Е.С. 65  
Болдина Л.В. 173  
Болондинский В.К. 66  
Борисова Г.Г. 387  
Боровский Г.Б. 263  
Бочкарева М.А. 377  
Бояршинов А.В. 68  
Брускова Р.К. 251  
Буболо Л.С. 69, 230  
Бубякина В.В. 270, 288  
Будаговская Н.В. 70  
Будкевич Т.А. 71, 153, 174  
Будькина Н.П. 72  
Бургутин А.Б. 91  
Бурлакова Е.Б. 152  
Бурханова Г.Ф. 23  
Бурьянов Я.И. 140, 141, 156  
Буцанец П.А. 73  
Быков О.Д. 69, 75  
Быстрова Е.И. 165, 318

## **В**

Вагун И.В. 76  
Варакина Н.Н. 291  
Васекина А.В. 302  
Василевский А.А. 77, 259  
Васильева Г.Г. 169  
Васильева Е.А. 78  
Ващенко В.Ф. 80  
Веденичева Н.П. 81, 341  
Великсар С.Г. 82  
Венжик Ю.В. 360, 362  
Веселов А.П. 78, 367  
Веселов Д.С. 83, 85, 358

Ветчинникова Л.В. 203  
Виликайнен Л.М. 66  
Вильданова А.Р. 19  
Вильданова Р. 178  
Виноградова А.А. 86  
Виноградская М.А. 69  
Вишневская М.С. 87  
Власова Т.А. 88  
Вобликова В.Д. 401  
Воденеев В.А. 29, 89, 347  
Войников В.К. 90, 117, 118, 183, 224, 263  
Войтенко Л.В. 81, 341  
Войцехович В.С. 181  
Волков К.Б. 208  
Волков К.С. 244  
Волкова А.С. 374  
Волкова Л.А. 91  
Волотовский И.Д. 46  
Воронин П.Ю. 93, 398  
Воронкова Т.В. 94, 192  
Ву Тхи Лоан 315  
Высоцкая Л.Б. 95, 354  
Высоцкий В.И. 289  
Высоцкий Д.А. 97, 150

## **Г**

Гавриленко Т.А. 312  
Гаджиева И.Х. 98  
Газизова Н.И. 99  
Галибина Н.А. 101, 353  
Гамалей Ю.В. 102  
Гамбург К.З. 263, 291  
Гарифзянов А.Р. 103  
Генатулина А.Р. 104  
Генерозова И.П. 105, 152  
Герасимова С.В. 113  
Герашенков Г.А. 297, 299  
Гисматуллина Л.Г. 398  
Гладков Е.А. 106, 107, 220  
Глянко А.К. 169  
Головатюк Е.А. 109  
Головко Т.К. 110, 158  
Гончаренко И.Н. 315  
Гончарова Э.А. 111

Гончарук В.М. 286  
Гончарук Е.А. 252  
Гордонова И.К. 88  
Горелова В.В. 113  
Горелова С.В. 114  
Горшков В.М. 115  
Горшкова Т.А. 245  
Грабельных О.И. 117, 183, 224  
Граскова И.А. 118  
Григориади А.С. 182  
Гринин А.Л. 119  
Гришин Е.В. 77, 259  
Гришко В.Н. 39, 121, 122, 283, 384  
Грищенко Е.Р. 174  
Гродзинский Д.М. 129  
Гузъ М.М. 325  
Гулевич А.А. 50, 193, 320  
Гурупрасад К. 194  
Гуца Н.И. 129

## **Д, Е**

Давид Т.В. 82  
Далькэ И.В. 110, 158  
Данильчук А.В. 122  
Даскалюк А.П. 123  
Демин И.Н. 40  
Демченко К.Н. 125, 206  
Демченко Н.П. 125  
Деревянчук М.В. 126, 378  
Дерябин А.Н. 127  
Дзюбенко Е.А. 87  
Дзюбенко Н.И. 87  
Дидух А.Я. 188  
Дидух Я.П. 188  
Дмитриев А.П. 129, 130  
Дмитрюкова М.Ю. 131  
Добровольский М.В. 253  
Долгих Ю.И. 107, 354  
Долгов С.В. 373  
Долгова Л.Г. 133  
Домаш В.И. 134, 174  
Дорогина О.В. 113  
Дорофеев В.И. 139  
Достанова Р.Х. 135  
Драч С.В. 126, 378

Дремук И.А. 136  
Дроздов С.Н. 138, 375  
Дроздова И.В. 139  
Дубовская Л.В. 46  
Дударева Л.В. 118  
Дунаева С.Е. 312  
Дустаматов А.Г. 403  
Дымова О.В. 110  
Дьяченко О.В. 140  
Дяченко А.И. 130  
Евдокимова Е.В. 353  
Егоров Ц.А. 77, 259, 401  
Егорова И.В. 221  
Емельянов В.В. 225  
Енина О.Л. 94  
Епринцев А.Т. 315  
Ермошин А.А. 141  
Ершова А.Н. 143, 144, 145  
Ефремова Л.П. 284  
Ефремова О.С. 147  
Ешинимаева Б.Ц. 148

## Ж, З, И

Жабинский В.Н. 174  
Жадько С.И. 149  
Жамалетдинов Н.К. 150, 211  
Жернаков А.И. 206  
Жесткова И.М. 281  
Живетьев М.А. 118  
Жигачева И.В. 152  
Жуковская Н.В. 403  
Заболотный А.И. 71, 153, 174  
Забрейко С.А. 134  
Завадская М.И. 154  
Загоскина Н.В. 73, 196, 234, 250, 252  
Зарипова Н.Р. 223  
Заславский В.А. 188  
Захаренкова Т.С. 155  
Захарченко А.В. 156  
Захарченко Н.С. 140, 156  
Захожий И.Г. 110, 158, 159  
Зейслер Н.А. 54  
Зинченко В.В. 160  
Зорина А.А. 160, 221, 321  
Зубкова Е.К. 230

Зубкова Н.К. 161  
Ибрагимов Р.И. 163, 379, 409  
Ибрагимова Н.Н. 245  
Ибрагимова С. 407  
Ибрагимова С.С. 164  
Иваненко Ю.А. 75  
Иванов Б.И. 271, 280  
Иванов В.Б. 165, 318  
Иванов И.И. 95, 166  
Иванов Р.В. 280  
Иванов Ю.В. 306  
Иванова Е.М. 119, 168, 374  
Иванова Р.А. 123  
Ивахненко К.Ю. 33  
Измайлов С.Ф. 251  
Ионова Н.Э. 86  
Ищенко А.А. 169

## К

Кабашникова Л.Ф. 295  
Казакова А.С. 185  
Казнина Н.М. 51, 170  
Калацкая Ж.Н. 215  
Калачова Т.А. 172, 406  
Калимова И.Б. 125  
Калинина Е.А. 301  
Камелбек Н. 42  
Каменцева И.Е. 69  
Канаш Е.В. 173  
Канделинская О.Л. 174  
Капиносова М.А. 173  
Каримова Ф.Г. 99  
Карманов И.В. 177  
Карманова О.И. 175, 177  
Карпенко О. 178  
Карпец Ю.В. 179, 191  
Качалова Н.М. 181  
Квеситадзе Г. 178  
Ким В.Е. 206  
Киреева Н.А. 182  
Кириченко Е.Б. 94  
Кириченко К.А. 183  
Кирсанова С.Н. 164  
Киршибаев Е.А. 314  
Киселева И.С. 184, 368, 374

Кислюк И.М. 69  
Клаус А.А. 223  
Ковалёва О.Н. 185  
Коваль В.С. 113  
Кожевникова А.Д. 187, 318  
Кожуро Ю.И. 316  
Козеко Л.Е. 188  
Козел Н.В. 189  
Козлов Н.Н. 50  
Колеснева Е.В. 46  
Колобаева Н.А. 114  
Коломейченко В.В. 375  
Коломиец Т.М. 115, 311  
Колупаев Ю.Е. 179, 191  
Комарова Г.И. 43  
Кондратьева В.В. 192  
Кононенко Н.В. 193  
Коппель Л.А. 194  
Кордюм Е.Л. 188  
Корецкая Ю.Л. 82  
Королева Н.А. 117, 224  
Королькова Д.В. 73, 196  
Корытько Л.А. 286, 399  
Косицына А.А. 197  
Костина В.М. 198  
Косык О.И. 327  
Косян А.М. 327  
Котенко Т.Б. 247  
Котлова Е.Р. 69  
Кочетов А.В. 113, 164  
Кочетова Г.В. 194  
Кочешкова Т.К. 253  
Кошкин Е.И. 76  
Кравец В.С. 126, 172, 285, 378, 406  
Кравчук Ж.Н. 130  
Красильникова Л.А. 307  
Кретинин С.В. 172, 285, 378, 406  
Крикунова Н.Н. 152  
Крыжановская М.С. 129  
Кгиторова И.Н. 199  
Кудярова Г.Р. 95, 166, 201, 354, 358  
Кудряшева З.К. 262  
Кузина О.Н. 202  
Кузнецов В.В. 57, 161, 223  
Кузнецов Вл.В. 35, 119, 148, 208, 244, 341, 342, 374,

Кузнецова Н.А. 205, 208  
Кузнецова Т.Ю. 203  
Кукреш С.П. 154  
Кулаева О.А. 206, 207  
Куликова А.Л. 205, 208  
Куприянова Е.В. 210  
Купцов Н.С. 174  
Куренина Л.В. 193, 320  
Курилов Д.В. 94  
Куркова Е.Б. 150, 211, 261  
Курманбаева А.С. 212  
Куртикова А.Л. 378  
Курьшева О.С. 235  
Кэлугэру-Спэтару Т.Н. 123

## Л

Лаврова В.В. 213  
Лазарева Е.М. 302  
Лайдинен Г.Ф. 51, 170  
Ламан Н.А. 215  
Лапикова В.П. 155  
Лапшин П.В. 252  
Ласточкин В.В. 225  
Ласточкина О.В. 216, 389  
Латюк И.Д. 221  
Лаштабега Д.А. 217  
Лебедева А.А. 156  
Липатникова А.Б. 219  
Лисник С.С. 82  
Литвинова И.И. 220  
Литвиновская Р.П. 126, 378  
Лихолат Ю.В. 237  
Лось Д.А. 34, 160, 221, 321  
Лукаткин А.С. 221, 308  
Лысенко Е.А. 223  
Любушкина И.В. 183, 224

## М

Ма Г. 225  
Майсурян А.Н. 320  
Максимов И.В. 23, 226, 293, 409  
Максимов Т.Х. 270, 288, 335  
Максимова Н.П. 316  
Малева М.Г. 227, 387

Мальшева И.Е. 362  
Мальцева Е.Ю. 388  
Маляровская В.И. 229  
Мамонов А.Г. 373  
Мамонов Л.К. 303  
Мамушина Н.С. 230  
Манжелесова Н.Е. 231, 286, 399  
Мапелли С. 296  
Мараей Мухаммед М. 233  
Маракаев О.А. 234  
Маркин Н.В. 235  
Мартынова Н.В. 237  
Масленников П.В. 238  
Маталин Д.А. 159, 239  
Матвеева Е.М. 213  
Матушикова И. 109  
Машталер Н.В. 384  
Медведев С.С. 312  
Мендель Д.Д. 215  
Минибаева Ф.В. 240, 305  
Миргородская О.Е. 241  
Миронов К.С. 221  
Мирославов Е.А. 241  
Митина А.М. 219, 243  
Мифтахова И.Г. 359  
Михайлов А.Л. 359  
Михальская Л.Н. 244  
Мишарина Т.А. 152  
Мишина Е.Н. 89  
Мокшина Н.Е. 245  
Монахова О.Ф. 383  
Моргун Б.В. 244  
Мошков И.Е. 160, 246  
Мурата Н. 34  
Мурзаева С.В. 65  
Мусатенко Л.И. 81, 341  
Мыкиевыч И.М. 371  
Мясоедов Н.А. 211, 261, 397

## Н

Нам В.В. 80  
Нарайкина Н.В. 40, 323  
Невмержицкая Ю.Ю. 359  
Недуга Е.М. 247  
Некрасова Г.Ф. 227

Неруш В.Н. 29, 347  
Нестеров В.Н. 248  
Нечаева Т.Л. 250  
Никитин А.В. 251  
Николаева Т.Н. 198, 252  
Никонов В.И. 358  
Никонорова А.К. 401  
Новикова Г.В. 160, 246  
Новицкая Г.В. 253  
Новицкий Ю.И. 253, 254, 317  
Носов А.В. 255  
Носов А.М. 91  
Нохсоров В.В. 381  
Нужная Т.В. 334, 382  
Нуров У. 407

## О

Овруцкая И.И. 256  
Огородникова С.Ю. 394  
Одинцова Т.И. 77, 259, 297, 299  
Олениченко Н.А. 196  
Олиневич О.В. 377  
Омарова З.А. 21, 258  
Опанасенко В.Ф. 237  
Опарин П.Б. 259  
Орлов В.П. 260  
Орлова Л.А. 29  
Орлова О.В. 89  
Орлова Ю.В. 261, 397  
Осипов Ю.А. 173  
Осипова Е.С. 354  
Осмоловская Н.Г. 202, 262  
Остудимов А.О. 325  
Охлопкова Ж.М. 277, 279, 280

## П

Павлов А.В. 87  
Павлова Е.Л. 263  
Павловская Н.С. 117, 183, 224  
Павлючкова С.М. 265  
Палладина Т.А. 266  
Паничкин В.В. 160  
Панова Г.Г. 173  
Парамонова Н.В. 267

Пасечник Т.Д. 155  
Пашковский П.П. 269  
Пентегов С.Ю. 181  
Перк А.А. 270, 271, 274, 276,  
277, 279, 280, 288,  
Перфильева А.И. 273  
Петров К.А. 270, 271, 274, 276,  
277, 279, 280, 381,  
Пиголева С.В. 156  
Пиотровский М.С. 281  
Писковая О.Н. 283  
Побежимова Т.П. 117, 183, 224  
Пожидаева Е.С. 57, 284  
Позднякова С.В. 66  
Покотило И.В. 285  
Полимбетова Ф.А. 303  
Половинкина Е.О. 78, 367  
Полякова Н.В. 286, 399  
Полянская С.Н. 286, 399  
Пономарев А.Г. 270, 288  
Пономарева А.А. 305  
Попова Л.Г. 104, 159, 239  
Попова Н.Ф. 262  
Постригань Б.Н. 389  
Потокина Е.К. 87  
Придача В.Б. 66  
Пронина Н.А. 210  
Прохоров В.Н. 174  
Птицын К.Г. 44  
Пузанский Р.К. 289, 290  
Пуляевская М.А. 291, 292  
Пусенкова Л.И. 293, 363  
Пучкова О.А. 308  
Пшибытко Н.Л. 295  
Пыненкова Н.А. 308

## Р

Радюк М.С. 153  
Радюкина Н.Л. 269, 296, 337  
Ракитин В.Ю. 340, 342, 405  
Ралдугина Г.Н. 233  
Раля Т.Х. 123  
Рамазанова П.Б. 98  
Рахманкулова З.Ф. 131  
Рекославская Н.И. 310

Рихванов Е.Г. 263, 291, 292  
Рожнова Н.А. 297, 299  
Розенцвет О.А. 65, 110, 248  
Романова А.В. 164  
Роньжина Е.С. 300, 301  
Рослякова Т.В. 302  
Рукавцова Е.Б. 141  
Русakov Д.В. 173  
Русалева Т.М. 291  
Русяева М.М. 221  
Рыбченко Ж.И. 266  
Рымарева Е.В. 273  
Рысбекова А.Б. 303  
Рябовол В.В. 305  
Рябченко А.С. 43

## С

Савочкин Ю.В. 306  
Садовниченко Ю.А. 307  
Сазанова К.А. 308  
Сайто Х. 335  
Салаяв Р.К. 310  
Самарина Л.С. 115, 311  
Саматова И.С. 312  
Самута В.Ю. 202  
Сангаев С.С. 164  
Сарсенбаев Б.А. 42, 314  
Сафронова Н.М. 212  
Сахабутдинова А.Р. 216, 389  
Светлова Н.Б. 343  
Седов К.А. 220  
Селиванова Н.В. 315  
Семенова В.В. 336  
Семенчик Е.А. 316  
Сердюков Ю.А. 317  
Серегин И.В. 187, 318  
Серенко Е.К. 147, 193, 320  
Синенко О.С. 141  
Синетова М.А. 160, 221, 321  
Синещеков В.А. 194  
Синицына Ю.В. 78  
Синькевич М.С. 322, 323  
Синютина Н.Ф. 248  
Скобелева О.В. 199  
Скрипецъ Х.И. 325

Скрыпник Л.Н. 238, 370, 388  
Слепченко Н.А. 326  
Смирнов А.Е. 327  
Смирнов А.Н. 373  
Смирнова В.С. 328  
Смирнова Н.С. 234  
Смоликова Г.Н. 330  
Снегирева А.В. 245  
Соболькова Г.И. 219, 243, 405  
Соколенко-Ниблинг А.В. 284  
Соколов О.И. 260, 332  
Соколова М.Г. 331  
Соколова М.К. 260, 332  
Сомов К.А. 216  
Сорокань А.В. 334  
Софронова В.Е. 335, 336  
Софронова И.Н. 101  
Сошинкова Т.Н. 337  
Спивак Е.А. 339  
Степанов А.В. 224, 263, 291, 292  
Степанова А.Ю. 354  
Степанченко Н.С. 160, 246  
Стеценко Л.А. 81, 340, 341, 342, 393  
Столбикова А.В. 118  
Стороженко В.А. 343  
Стржалка К. 295  
Стриж И.Г. 345  
Стробикина А.С. 359  
Суворова Г.Г. 335  
Судник А.Ф. 346  
Султанова Н.А. 135  
Сурина О.Б. 163  
Суханова В.В. 238  
Сухов В.С. 89, 347  
Сысоева М.И. 213  
Сыщиков Д.В. 349

## Т

Табаленкова Г.Н. 110  
Таланов А.А. 203  
Таланова В.В. 203, 350, 360, 362  
Таран Н.Ю. 55, 109, 343  
Таранов В.В. 255  
Таранов О.Н. 303, 351  
Тарлачков С.В. 140

Таршис Г.И. 71  
Таршис Л.Г. 71  
Татаринова Т.Д. 270, 288  
Таусон Е.Л. 263  
Теребова Е.Н. 353  
Теренина М.Б. 152  
Терешонок Д.В. 354  
Терлецкая Н.В. 355  
Терлыга Н.С. 357  
Тимергалин М.Д. 358  
Тимофеева М.Г. 19  
Тимофеева О.А. 359  
Титов А.Ф. 51, 72, 170, 203, 350,  
360, 362  
Тихомиров А.А. 366  
Тодерич К.Н. 398  
Топунов А.Ф. 174  
Топчиева Л.В. 170, 213, 350, 362  
Трапезников В.К. 166  
Трифонов С.Н. 366  
Трифорова А.В. 250  
Трофимова М.С. 281, 391  
Трофимова Н.В. 56  
Трубина М.Р. 184  
Трунова Т.И. 40, 323  
Тютерева Е.В. 230

## **У, Ф, Х**

Умаров И.А. 293, 363, 379  
Усатов А.В. 28, 235, 364  
Устенко А.А. 364  
Ушакова С.А. 366  
Фазилев Р.Н. 367  
Фазлиева Э.Р. 368  
Фаттахов С.Г. 152, 161  
Фатхутдинова Р.А. 56  
Федорин Д.Н. 315  
Федосеева Г.П. 93  
Федураев П.В. 370  
Фецко З.М. 371  
Фрике В. 85  
Фролов Е.М. 238  
Фролова С.А. 360, 362  
Хайленко Н.А. 355  
Хайлова Г.Ф. 372

Халилова Л.А. 150, 211  
Халилуев М.Р. 373  
Хамрабаева З.М. 407  
Харченко П.Н. 147, 320  
Хатисашвили Г. 178  
Хлыстов И.А. 184  
Ходянок А.А. 154  
Холодова В.П. 35, 82, 119, 161,  
168, 208, 233, 244, 374  
Холопцева Е.С. 375  
Хомидов Х. 407  
Хохлова Л.П. 377  
Хрипач В.А. 126, 154, 174, 378  
Хютти А.В. 207

## **Ц, Ч, Ш**

Цветков В.А. 363  
Цветков В.О. 379  
Цыганов В.Е. 206, 207  
Цыганова А.В. 206  
Чайка А.К. 147  
Чащина Н.М. 154  
Чекунова Е.М. 289  
Чепалов В.А. 271, 276, 277, 279,  
280, 381  
Черемовская Ю.К. 234  
Черепанова Е.А. 226, 382  
Черникова О.В. 133  
Чернышева А.В. 198  
Чернядьев И.И. 383  
Чипиляк Т.Ф. 384  
Чиркова Т.В. 225  
Чубукова О.В. 386  
Чукина Н.В. 227, 387  
Чупахина Г.Н. 370, 388  
Шабурова О.С. 227  
Шаварда А.Л. 290  
Шакирова Ф.М. 56, 216, 389  
Шалыго Н.В. 189  
Шамон Ф. 377  
Шарипова Г.В. 85, 358  
Шарова Е.И. 312  
Шарпио Т.П. 134  
Шашукова А.В. 296  
Швартау В.В. 244

Швец А.А. 60, 390  
Шевчук Т.В. 140  
Шевырева Т.А. 281, 391  
Шевякова Н.И. 81, 148, 340,  
341, 342, 393  
Шелепова О.В. 192  
Шерудило Е.Г. 213  
Шестаков С.В. 160  
Широких И.Г. 394  
Широкова Н.П. 395  
Шихов В.Н. 366  
Шишова М.Ф. 289, 290  
Шклавцова Е.С. 366  
Шманов М.А. 314  
Шпирная И.А. 163, 379, 409  
Шувалов А.В. 397  
Шугаев А.Г. 57, 105, 152, 217, 255  
Шуйская Е.В. 398  
Шуканов В.П. 286, 399  
Шукуров Р.Р. 401  
Шуплецова О.Н. 394, 402

## **Щ, Э, Ю, Я**

Щеглова Н. 178  
Щипарев С.М. 312  
Эрлих Н.Т. 403  
Юлдашев Р.А. 389  
Юлдашев Х.Ю. 407  
Юрина Н.П. 404  
Юрьева Н.О. 219, 243, 405  
Юсуфов А.Г. 33  
Яковенко О.Н. 172, 406  
Яковлева И.М. 61  
Якубова М.М. 407  
Яруллина Л.Г. 163, 409  
Ястреб Т.О. 191



**ТЕЗИСЫ,  
не попавшие в печатную версию**



## ОТВЕТ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ РАПСА (*Brassica napus* L.), СОДЕРЖАЩИХ ВСТРОЕННЫЙ ГЕН РИСА *OsMyb4*, НА ДЕЙСТВИЕ Пониженной Положительной Температуры

Гомаа\* А., Бурмистрова\*\* Н.А., Радионов\*\* Н.В, Ралдугина\*\* Г.Н.

\* Российский университет дружбы народов, ул. Миклухо Маклая, д. 6, 117198 Москва

\*\* Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая 35, 127276 Москва, тел.:(495)2318302, факс:(495)9778018

E-mail: galina@ippras.ru

Ген *OsMyb4*, выделенный из ядерного генома риса, является геном трансфакторного белка, вызывающего экспрессию генов, отвечающих за устойчивость растений к неблагоприятным факторам, таким как воздействие пониженных положительных температур, дефицита воды или воздействие ионов «тяжелых» металлов. При встраивании гена *OsMyb4* в другие растения они также должны стать более устойчивыми к действию неблагоприятных факторов. Нами были получены трансгенные растения рапса сорта Вестар с геном *OsMyb4* под *cor*-промотором, который индуцируется низкими положительными температурами. Конструкция, содержащая также ген *nptII*, была предоставлена сотрудниками Института с/х биологии и биотехнологии, Милан, Италия. Полученные трансгенные растения по внешнему виду не отличались от нетрансформированных растений. Растения при посадке в почву после самоопыления образовали семена, из которых в условиях *in vitro* были получены растения. Ген *OsMyb4* был найден в 53 растениях из 95 исследованных, однако только в 23 растениях он наследовался совместно с геном *nptII*. У этих трансгенных растений методом ОТ-ПЦР после экспонирования их при температуре +4С° экспрессию встроенного гена наблюдали только у 15 растений-потомков. Из них были отобраны 3 линии с различной активностью экспрессии: сильной, средней и слабой. На растения этих линий, растущих в гидропонной культуре, воздействовали пониженной температурой +4С° в течение 5-ти сут., после чего вернули на +20С°. У испытанных растений было измерено содержание растворимых сахаров и пролина. До начала опыта содержание сахарозы и Про у трансгенных и контрольных растений примерно равно, тогда как фруктозы и глюкозы у нетрансформированных в 2 раза больше. При воздействии холода суммарное содержание сахаров у трансгенных растений было значительно ниже, чем у контрольных растений. При этом у трансгенных растений по сравнению с нетрансформированными происходило сильное увеличение синтеза пролина. Очень интересно, что на 5 сутки воздействия холода у нетрансформированных растений содержание

сахарозы уменьшалось, тогда как концентрация фруктозы и глюкозы возрастала. У трансгенных растений такого эффекта не наблюдали. После переноса растений на +20С° содержание всех исследованных соединений через 4 сут. возвращалось к норме у всех линий. Таким образом, можно сказать, что встроенный ген действительно изменяет ответ растений на холодовое воздействие. Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 10-04-00799-а; 09-08-01243-а, а также программы Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология».

## **ВЛИЯЕТ ЛИ САЛИЦИЛОВАЯ КИСЛОТА НА ХОЛОДОУСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ**

Красавина М.С., Прудников Г.А., Бурмистрова Н.А., Паничкин Л.А.

\*Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; ул. Ботаническая 35, 127276 Москва, тел.:(495)2318334, факс:(495)9778018

E-mail: [krasavina@ippras.ru](mailto:krasavina@ippras.ru)

В последнее время активно изучается роль салициловой кислоты (СК) в формировании устойчивости растений. Наиболее изучено взаимодействие СК с устойчивостью к биотическим факторам, относительно влияния на абиотические стрессы остается много вопросов. Особенно противоречивы данные по действию СК на холодоустойчивость растений. С одной стороны, опрыскивание листьев холодоустойчивой озимой пшеницы раствором СК повышало холодо- и морозоустойчивость (Tasgin et al., 2003). Такие же данные получены для чувствительного к холоду банана (Kang et al., 2007). Но с другой стороны, введение СК в гидропонику снижало выживаемость пшеницы при низких отрицательных температурах (Horváth et al., 2007). Исследования, проведенные на трансгенных растениях, обнаружили обратное отношение между содержанием СК в тканях и устойчивостью растений к холоду. Например, в арабидопсисе, трансформированном *nahG*, концентрация СК была ниже, чем в диком типе, при этом трансген лучше рос при 5°C (Scott et al., 2004). Аккумулирующий СК мутант *siz1* оказался весьма чувствительным к низким температурам. Но экспрессия *nahG* совместно с *siz1* приводила к снижению концентрации СК в тканях и повышала холодоустойчивость (Miura, Ohta, 2010).

Известно влияние низкотемпературного стресса на структуру (Murata, Los, 1997) и транспортную активность клеточной мембраны (Knight, 1996),

в первую очередь проводимость Са-каналов и, возможно, Са<sup>2+</sup>-зависимых анионных каналов (Pickard, Ding, 1993, Krol, Trebacz, 1999, Carpaneto et al., 2007). При этом снижается мембранный потенциал и биоэлектрическая активность мембраны. На эти же каналы, по-видимому, действует СК, что предполагает возможность влияния СК на устойчивость к холоду.

В наших опытах предобработка листа огурца или клеток харовой водоросли СК (0.1-5 мМ) в течение 1-2 часов изменяла форму и параметры потенциала действия (ПД) и местной электрической реакции (МЭР) на охлаждение. В концентрации 0.1 мМ СК увеличивала амплитуду МЭР и продолжительность ПД, при более высоких концентрациях СК амплитуда МЭР снижалась, а генерация ПД резко тормозилась. Действие салициловой кислоты было специфичным: ни слабая кислота (ацетат), ни неактивный аналог салициловой кислоты (4-оксibenзойная кислота) не изменяли параметров биоэлектрической реакции. Более низкую амплитуду МЭР отмечали для менее чувствительного к холоду гибрида огурца Мазай по сравнению с более чувствительным гибридом Емеля. Сравнение этих данных с действием СК позволяет предполагать снижение чувствительности к холоду в присутствии СК. Об этом же свидетельствует меньшая утечка электролитов из листовых дисков в присутствии СК. В дальнейшем необходимо использовать больший набор различающихся по устойчивости растений.

## **СОДЕРЖАНИЕ ПРОЛИНА В ЛИСТЯХ РАСТЕНИЙ КЛЕВЕРА (*Trifolium L.*), ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ ВЛАЖНОСТИ.**

Крашенинников В. Н.,\* Хрянин В. Н.\*

\*Пензенский государственный педагогический университет им. В. Г. Белинского, ул. Лермонтова 37, 440026 Пенза, тел.: (8412)548516, факс: (8412)562566

E-mail: [khryanin@spu-penza.ru](mailto:khryanin@spu-penza.ru)

В связи с интенсивной деятельностью человека и возникающими вследствие этого изменениями окружающей среды проблема сохранения биоразнообразия дикорастущих видов растений выходит на первый план. Влияние абиотических факторов приводит к уменьшению видов растений и надо понять механизмы адаптации и устойчивости живых организмов к действию стрессоров на анатомо-морфологическом, физиологическом и биохимическом уровнях. В этом отношении представляет интерес определение одного из низкомолекулярных

антиоксидантов – пролина у растений в различных условиях произрастания. В работе проведено сравнение степени устойчивости разных видов рода клевер (к.) к дефициту влаги. Все растения данного вида являются важными составляющими биоценозов и агроценозов, что требует их всестороннего изучения. Для исследований были взяты образцы 5 наиболее распространенных в Пензенской области видов клевера (к. луговой, к. ползучий, к. горный, к. альпийский, к. пашенный.) с двух участков: поймы реки, в достаточной близости поверхностных и грунтовых вод, и водораздела, в условиях относительного дефицита влаги. Наибольшим разнообразием по анатомическому строению характеризуются стебли и особенно черешки листа различных видов клевера. Выявляется четкая закономерность между местом обитания и строением этих частей растения. Различия наблюдаются по количеству и расположению проводящих пучков, степени сформированности тканей, наличием или отсутствием трихомов. Размеры клубеньков и количество азотфиксирующих бактерий зависит от влажности почвы. Для определения содержания пролина использовались растения в фазе цветения без каких-либо признаков повреждений. Листья для анализа брали со среднего яруса растений с одного или нескольких рядом расположенных экземпляров в трех биологических повторностях. Содержание свободного пролина измеряли по методу Bates et al. (1973) на спектрофотометре Varian Cary 50. Результаты исследований показывают, что в условиях дефицита влаги у всех видов клевера наблюдается повышенное содержание пролина. Так, у таких видов клевера, приуроченных к влажным местам обитания (пойме) уровень пролина составлял у к. горного – 0,85 – 1,23 мкмоль/г сыр. веса, к. пашенного – 0,39 – 0,70 мкмоль/г сыр. веса, к. альпийского – 0,42 – 0,68 мкмоль/г сыр. веса, к. лугового – 0,76 – 0,91 мкмоль/г сыр. веса, к. ползучего – 0,61 – 1,04 мкмоль/г сыр. веса, а на водоразделе у этих видов содержание пролина было к. горного – 4,95 – 6,27 мкмоль/г сыр. веса, к. пашенного – 4,33– 4,59 мкмоль/г сыр. веса, к. альпийского – 3,08 – 3,16 мкмоль/г сыр. веса, к. лугового – 1,46 – 1,67 мкмоль/г сыр. веса, к. ползучего – 1,80 – 2,17 мкмоль/г сыр. веса. По содержанию пролина в растениях можно судить об адаптации и устойчивости данных видов к дефициту влаги. Наиболее засухоустойчивыми оказались к. пашенный и к. горный, а наименее устойчивы к. ползучий и к. луговой.

## УЧАСТИЕ ПЕРОКСИДАЗ АПОПЛАСТА В МОДИФИКАЦИИ УРОВНЯ ПРО-/АНТИОКСИДАНТОВ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ В ПРОЦЕССЕ ДЕЭТИОЛЯЦИИ

Томилин М.В., Олюнина Л.Н., Веселов А.П.

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского;  
пр. Гагарина 23, 603950 Нижний Новгород, Тел: (831)4652040, Факс: (831)4620385

Пероксидаза (ПО), являясь неспецифическим универсальным ферментом с очень широким спектром действия, реагирует на любые воздействия, оказываемые на растительный организм. Фермент «двойного назначения», вовлечён как в процесс генерации, так и детоксикации активных форм кислорода (АФК), повышая адаптационные возможности растений в реакциях на действия экологических факторов, основной из которых – свет. Цель настоящей работы явилось выявление роли внеклеточных пероксидаз в окислительно-восстановительных реакциях проростков пшеницы в процессе деэтиоляции.

Опытными объектами служили этиолированные проростки яровой пшеницы сорта «Московская 35» (водная культура), которые в возрасте 6 дней переносили под люминесцентные лампы. Ферментативную активность бензидин (БПО), гваякол (ГПО), аскорбат (АПО) и НАД(Ф) Н-пероксидаз, а так же ИУК (ИУК-ПО) определяли в апопласт-омывающем растворе (АОР) побегов и корней проростков пшеницы. Активность исследуемых ферментов регистрировали спектрофотометрически: БПО ( $\epsilon_{590}=39 \text{ мМ}^{-1}\text{см}^{-1}$ ), ГПО ( $\epsilon_{470}=26,6 \cdot 10^3 \text{ М}^{-1}\text{см}^{-1}$ ), АПО ( $\epsilon_{265}=7 \text{ мМ}^{-1}\text{см}^{-1}$ ), НАДН-ПО ( $\epsilon_{340}=4,23 \text{ мМ}^{-1}\text{см}^{-1}$ ), НАДФН-ПО ( $\epsilon_{340}=6,22 \cdot 10^3 \text{ М}^{-1}\text{см}^{-1}$ ), активность ИУК-оксидазы ( $\epsilon_{254}=18,7 \text{ мМ}^{-1}\text{см}^{-1}$ ). В качестве субстрата использовали раствор 4,4'-диаминодифенил (0,005М), гваякол (0,05%), аскорбат (2,5мМ), НАДН (0,3мМ), НАДФН (0,3мМ) и ИУК (0,6мМ); активность выражали в ммоль субстрата/мг ГСБ\*1 мин. Концентрацию гемсодержащего белка (ГСБ) в пробах определяли спектрофотометрически (403 нм).

В наших экспериментах выявлено, что основной пул внеклеточной пероксидазной активности, кроме БПО сосредоточен в надземных органах, а пероксидазно – оксидазная (кроме НАДН-ПО) активность фермента, которая вызывает генерацию АФК, в корнях проростков пшеницы. Кратковременная деэтиоляция проростков вызывала разнонаправленные (в побегах и корнях проростков пшеницы) изменения активности внеклеточной пероксидазы. Уже через 5 мин после воздействия свет в корнях активировал антиоксидантную (БПО, ГПО, АПО) активность ПО и снижал прооксидантную. При этом в побегах активность апопластной ПО (кроме активности БПО) была снижена. При 10-15 мин деэтиоляции в АОР

надземных органов снижается пероксидазная, но повышается оксидазная функция пероксидазы (НАД(Ф)Н-ПО, ИУК-ПО). В корнях проростков пшеницы (кроме ГПО и НАДН-ПО) активность ПО была снижена. Таким образом, свет избирательно модифицирует ПО проростков пшеницы: в корнях он активирует антиоксидантную (пероксидазная активность), а в побегах – прооксидантную (оксидазная функция ПО) активность. Следовательно, можно предположить, что в апопласте исследуемых органов свет специфически модифицирует уровень АФК проростков, вызывая тонкую регуляцию антиоксидантной защиты внеклеточного компартмента.



## СОДЕРЖАНИЕ

Организационный комитет .....	4
Тезисы конференции .....	7
Авторский указатель.....	411
Тезисы, не попавшие в печатную версию .....	419