

Роль эписброинолида в солеустойчивости растений *in vitro*

Алиева З.М., *Хасаева З.Б

*1 курс аспирантуры

Дагестанский государственный университет, Россия

Объектами исследования служили проростки подсолнечника (с. ВНИИМК 8883), фасоли (с. Сакса) и томата (с. Факел). Экспланты семядолей (ЭС) и гипокотилей (ЭГ) культивировали на среде Мурасиге-Скуга (МС) с добавлением ИМК (0.5 мг/л), БАП (2.5 мг/л) и эписброинолида (ЭБ) 10^{-8} М и NaCl (0.17М). Реакцию эксплантов на ЭБ и засоление оценивали по показателям выживаемости, роста, активности каллусо- и ризогенеза, величине биомассы экспланта и каллуса. У семядолей и гипокотилей подсолнечника в условиях засоления выживаемость эксплантов составила 35 и 20 %. На среде с ИМК и БАП или на среде с ЭБ эти показатели повышались соответственно до 45-60 и 45%. Совместное же их введение при засолении повышало выживаемость ЭГ до 75, а ЭС – только до 60%.

Варианты заметно различались и по интенсивности каллусообразования эксплантов. При введении в среду NaCl пролиферации каллуса не наблюдалось, а в варианте NaCl+ИМК+БАП – каллус отмечен уже у 55% структур (как и на среде с регуляторами без соли). ЭБ повышал показатели каллусообразования до 2.4 балла и 75% соответственно. Подобная картина наблюдалась нами и при культивировании эксплантов семядолей томата, и гипокотилей фасоли. Оптимальным для роста каллуса оказалось сочетание ЭБ+ИМК+БАП. В этом варианте масса каллуса составила 172 мг, превысив показатель вариантов ИМК+БАП на 20 %, а варианта МС без регуляторов - в 3,5 раза. При засолении среды сочетание ЭБ+ИМК+БАП оказывало более выраженный положительный эффект. Однако, ЭБ не заменял ИМК и БАП, но усиливал их эффект при совместном введении в среду. ЭБ проявлял защитное действие на экспланты при засолении среды как в присутствии, так и в отсутствии регуляторов роста. Так, выживаемость, каллусообразование и прирост эксплантов снижались при введении в минимальную среду NaCl. Добавление же в такую среду ЭБ повышало эти показатели до контроля. При одновременном введении в засоленную среду помимо эписброинолида ИМК и БАП защитное действие его было более выражено.

**Динамика пигментов растений при старении
и в связи с защитой от фотоокислительного стресса**

Аверчева О.В.

*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
биологический факультет*

При перестройке структуры и метаболизма, сопровождающих старение листьев и созревание плодов, нарушается работа ЭТЦ хлоропластов и снижается эффективность систем защиты от форм активированного кислорода, что приводит к повышенной опасности (фото)окислительного стресса. В связи с этим возрастает важность дополнительных фотозащитных систем. Такую роль могут играть каротиноиды (Кар), накапливающиеся в пластоглобулах (число и размеры которых значительно увеличивается в ходе развития хромопластов), часто в форме эфиров с жирными кислотами. Наряду с листьями, интересной системой для изучения процессов фотоадаптации и фотозащиты в ходе онтогенеза являются плоды яблони, позволяющие проводить сравнительный анализ пигментного аппарата на солнечной (адаптированной к действию сильного света) и теневой стороне.

Изучали динамику хлорофиллов (Хл) и Кар при осеннем старении листьев клена (*Acer platanoides* L.) и созревании плодов яблони (*Malus domestica* Borkh) сорта Антоновка Обыкновенная на дереве и после съема с дерева. В листьях и плодах обнаружены моно- и диэфиры Кар, изучено содержание ксантофиллов в составе этих классов эфиров. При старении листьев и при созревании плодов на дереве отмечена тенденция к снижению содержания свободных Кар; по достижении содержания Хл в листьях до 2–1 нмоль/см², а также после съема плодов с дерева, снижение содержания Кар в них сменялось ростом. При этом резко снижалось отношение свободных Кар к их эфирам. Степень индукции синтеза Кар была выше при более поздних сроках съема плодов, в кожице солнечной поверхности плодов и листьях с низким содержанием Хл. Более интенсивное накопление Кар может, по-видимому, быть связано с необходимостью защиты ФСА в тканях стареющих листьев и созревающих плодов от высоких потоков солнечного излучения в отсутствие эффективных фотозащитных механизмов, характерных для зрелых фотосинтезирующих тканей.

УДК 591.9

Гистохимическая оценка накопления тяжелых металлов растениями

Бакланов И.А.

Самарский муниципальный университет Наяновой

Одними из самых доступных и экономичных методов, использование которых перспективно в экологическом мониторинге, являются гистохимические методы выявления тяжелых металлов в растительных тканях. В модельных экспериментах были отработаны условия отдельного выявления в растительных тканях меди и ртути на основе метода И.В. Серегина и В.Б. Иванова (1997). Для модельного эксперимента в качестве образцов брали однолетние побеги ясеня зеленого и побеги цикория обыкновенного. Побеги помещали на растворы солей меди и ртути, а также на растворы их смесей, различных концентраций. Эксперимент проводился 7 суток. На 2-е и 7-е сутки в лабораторных условиях из побегов готовили свежие поперечные срезы, которые выдерживали в течение 3-5 минут в буферных смесях (значения pH от 1 до 14). После извлечения из смесей их окрашивали дитизоновым реактивом (3 мг дитизона в 8 мл ацетона) и микроскопировали. Выявление ионов меди и ртути основывалось на разнице окрасок их дитизонатов в одинаковых диапазонах pH.

По результатам экспериментов наибольшее накопление ионов металлов происходило в проводящих тканях (флоэма и ксилема). Локализация ртути в большинстве случаев ограничивалась этой областью, тогда как ионы меди посредством радиального тока по апопласту проникали и в другие ткани. Наибольшее количество металлов накапливалось в клеточных стенках, о чем свидетельствует их более активное, по сравнению с цитоплазмой, окрашивание. Наиболее яркая окраска выявлялась в интервале pH 5-7, поскольку в нейтральной и слабощелочных средах дитизон образует комплексы с максимальным количеством возможных ионов металлов.

УДК 581.1

Ионогенные группы структурных полимеров оболочек пыльцевого зерна лилии
Чайкова А.В., Николаева Ю.И.

Московский Государственный Университет им. М. В.Ломоносова

Оболочки пыльцевого зерна — интина и экзина, — образованные структурными полимерами, которые несут фиксированные заряды, содержат вместе с тем множество подвижных физиологически активных молекул и ионов. Подвижные компоненты играют важную роль в активации пыльцевого зерна. Следует ожидать, что функционирование и диффузия подвижных компонентов в процессе активации в значительной мере определяются природой и концентрацией заряженных (ионогенных) групп структурных полимеров. Удобной моделью для исследования является препарат изолированных оболочек. В задачи работы входило: разработка метода выделения и очистки оболочек пыльцевого зерна и определение основных типов и содержания ионогенных групп в полученном препарате. В качестве объекта использовали пыльцу лилии *Le Reve* (из группы ориентальных гибридов).

Разработанный метод включает последовательную экстракцию покровных материалов и компонентов протопласта с использованием органических растворителей, растворов детергента, NaOH и HCl. Полнота очистки препарата оболочек от компонентов протопласта подтверждена отсутствием ДНК по данным цитохимического анализа. Полученный препарат оболочек сохраняет форму пыльцевого зерна и рельефность его поверхности, в интине присутствуют целлюлоза и пектины, она способна к набуханию при гидратации; в интине и экзине выявлены фенольные производные. Получены экспериментальные зависимости ионообменной способности клеточных оболочек пыльцевых зерен от pH в диапазоне pH 2÷12 и постоянной ионной силе раствора 100 мМ. С использованием модели Грегора рассчитаны параметры, характеризующие качественный и количественный состав ионогенных групп клеточной стенки. Это позволило выявить в препарате оболочек четыре типа ионогенных групп: азотсодержащих ($pK_a \sim 3$), карбоксильных ($pK_a \sim 4,5$ и $7,5$), первая из которых является остатком галактуроновой кислоты, и фенольных ($pK_a \sim 10$).

Онтогенетические и экологические особенности содержания фенольных соединений в листьях и плодах рябины обыкновенной

Дудырева Л.А.

Удмуртский Государственный Университет, Россия

Рябина обыкновенная распространена во всех районах Удмуртии, входит в состав подлеска лиственных и хвойных пород. Она широко используется местным населением с лечебной или профилактической целями, а также в качестве пищевого растения. Фармакологическое ее действие обусловлено в частности содержанием водорастворимых фенольных соединений (ФС), обладающих Р-витаминной активностью.

Независимо от условий произрастания (открытая солнечная поляна или под пологом леса) в листьях рябины обыкновенной максимальное содержание ФС (18,97%-29,00 %) накапливается к моменту формирования зеленых плодов (I дек. июля), что связано с активным синтезом ФС в хлоропластах листьев, участием их в процессе фотосинтеза. Для рябины характерна очень длительная фаза роста зеленых плодов, длящаяся 1 месяц, в это время количество ФС в ее листьях снижается до 15,44-20,78%, так как – ФС выступают в качестве стимуляторов ростовых процессов при формировании плодов, происходит их отток из листьев в побеги и ягоды, где они подвергаются вторичным биосинтетическим процессам.

На протяжении всего периода роста зеленых плодов содержание ФС в них не поднимается выше 7,12-10,01%, в это время они используются как источники энергии на формирование плодов, семян, хлоропластов. Но затем в период листопада в зреющих плодах происходит резкое накопление ФС (до 21,09-33,22%). По всей видимости, отток ФС из листьев ускоряется, в кожуре плодов увеличивается количество антоцианов, образуются углеводороды неопределенного ряда, дающие начало ФС.

В ходе проведенных исследований установлено, что в листьях и плодах Р.обыкновенной в условиях интенсивного освещения, на открытом солнечном месте, происходит большее накопление ФС, чем под пологом леса (в листьях, в период максимального накопления соответственно – 29,00% и 19,15%, в плодах – 34,98% и 21,68%).

УДК 634.75:581.198(471.51)

**Особенности динамики накопления аскорбиновой кислоты и дубильных веществ
в листьях земляники лесной в условиях Удмуртии**

Григорьева М. Ю.

Удмуртский государственный университет, Россия

Максимальное количество аскорбиновой кислоты (АК) в листьях Земляники лесной отмечено в фазу бутонизации (2003 г. – 70,58 мг%, 2004 г. – 97,50 мг%). Активный синтез витамина С в этот период обусловлен развитием большой ассимилирующей поверхности, которая хорошо фотосинтезирует, накапливая АК. Последующее понижение количества АК в июне (2003 г. до 12,91 мг%, 2004 г. до 33,03 мг%) вызвано оттоком на формирование органов цветка, оплодотворение, передвижением в семена. Вновь АК накапливается в середине июля (2003 г. – 27,91 мг%, 2004 г. – 54,87 мг%), что связано с образованием новых крупных листьев и закладкой цветочных почек. В начале августа уровень АК уменьшается (2003г. – 19,31 мг%, 2004 г. – 35,65 мг%) вследствие передвижения ее в корневища. Третий небольшой пик (2003г. – 22,56 мг%, 2004 г. – 41,75 мг%) вызван образованием новых зимующих листьев. Понижение АК в конце вегетации (2003г. – 19,31 мг%, 2004 г. – 35,65 мг%) связано с прекращением процессов роста и дифференциации, подготовкой растения к зиме. Таким образом, в условиях теплого, с равномерным распределением обильных осадков 2004 г. содержание АК в листьях было выше, чем в 2003 г. который характеризовался резкими перепадами погодных условий. В листьях растений, выросших в условиях более сильного освещения, количество АК выше (например, в фазу бутонизации в 2003 г. – 70,58 мг%, в 2004 г. – 97,50 мг%), чем в условиях затенения под пологом леса (соответственно, 33,00 мг% и 65,50 мг%).

У Земляники лесной периоды накопления и траты дубильных веществ (ДВ) практически не выражены. Это связано с тем, что у нее листья возобновляются в течение практически всего вегетационного периода, а ДВ нужны в молодых, активно функционирующих листьях. В целом, уровень содержания ДВ в листьях изменяется в пределах 15,44% - 17,18% в 2003 г. и 11,59% - 14,64% в 2004 г. Максимальное количество ДВ зафиксировано в июле (2003г. – 17,18%, 2004 г. – 14,64%), в период цветения и плодоношения. Кроме того, в это время развиваются самые крупные листья. В отличие от АК, в более экстремальных погодных условиях 2003 г. содержание ДВ было выше, чем в 2004 г.

Изучение элементного состава лекарственного растения Княжика сибирского (*Atragene speciosa* Weinm)

Игнатова Т.Н.

Томский политехнический университет, Россия

Княжик сибирский (*Atragene speciosa* Weinm) (дикий хмель, сибирская лиана, лианалистолаз) – красивейшая лиана сибирской тайги. Это полукустарник 0,5-3 м длиной, с лежащими или цепляющимися стеблями из семейства лютиковых. Лекарственным сырьем служат трава и цветки. Это растение оказывает выраженный ноотропный и адаптогенный эффект. Работами И.В. Шиловой и др. установлено, что в его состав входит комплекс биологически активных веществ, аминокислот и др. органических соединений, которые оказывают большое влияние на состояние организма человека.

Исследовался элементный состав золы надземной части растения. Пробоподготовка проводилась по стандартной методике. В основу аналитических исследований положены два вида анализов: высокочувствительный нейтронно-активационный анализ с облучением тепловыми нейтронами и полуколичественный эмиссионный спектральный анализ.

Надземную часть растения собирали в 1997 - 1999 гг. в Красноярском крае, Республиках Алтай, Тыва, Хакасия в фазы бутонизации, цветения и начала плодоношения.

Для выявления степени накопления элементов в растениях, был подсчитан коэффициент биологического поглощения, введенный А.И.Перельманом (Ах), который характеризует интенсивность поглощения растениями элементов из почвы.

В целом проведенные исследования показали, что на элементный состав лекарственного растения Княжика сибирского оказывают влияние имеющиеся геохимические природные аномалии. В ходе работы было выявлено, что над свинцово-цинковым месторождением накапливаются свинец, олово, цинк и этот факт следует учитывать при сборе лекарственных растений. Кроме того, это растение избирательно накапливает свинец, олово, серебро, золото, что позволяет использовать его в качестве биогеохимического индикатора при геохимических поисках полезных ископаемых.

Растения томата выращивались на белом свете интенсивностью 60 Вт/м². В фазе семи настоящих листьев томаты поделили на 12 вариантов. Шесть вариантов томатов досвечивали красным, синим и зеленым и совместно красным и синим светом до заражения 8 дней. Другие шесть вариантов томатов досвечивали такими же разноволновыми участками света после заражения, также в течение 8-ми дней. Экспозиция спектрального света составляла 15 минут, различные участки спектрального света получали с помощью цветных силикатных стекол и выравнивали по числу падающих квантов до 10 ммоль м².с⁻¹. Двенадцать групп растений были механически инокулированы ВТМ (штамм U₁). Контролем служили здоровые растения, которые во время инокуляции натирали целитом с дистиллированной водой. На 15 день патогенеза появились симптомы заболевания у всех зараженных растений в виде скручивания листьев и мозаики. В ходе патогенеза измеряли ростовые параметры, содержание пигментов, соотношение подземной и надземной биомассы, чистую продуктивность фотосинтеза (ЧПФ). Накопление антигена ВТМ измеряли иммуноферментным анализом (ИФА). Инфекционность РНК контролировали методом местных некрозов на растениях табака *Nicotiana glutinosa*.

Достоверных различий по высоте растений не было обнаружено. Совместные досветки: красным, затем синим, синим и красным до заражения увеличивали содержание хлорофилла *b* как при ближнем, так и при дальнем транспорте вируса. На синем свету повышалось содержание суммы флавоноидов, а на красном – уменьшалось. Также на синем свету повышалось содержание рутина, а на красном – кверцетина. На раннем этапе инфицирования наблюдалось неблагоприятное воздействие на растения досветки красным светом как до, так и после инфицирования. Совместная досветка красным светом после синего до заражения уменьшала титр вируса к концу патогенеза. Тот же вариант досветки красным, затем синим светом, но после заражения, оказался эффективным в фотоиндукции устойчивости на 10-й и 20-й день патогенеза.

Накопление и распределение дубильных веществ по органам надземной части растений душицы обыкновенной

Китова Е. А.

Удмуртский государственный университет, Россия

Душица обыкновенная – многолетнее травянистое растение, широко применяемое в официальной и народной медицине, фармакологическое действие которой во многом обусловлено наличием в ее траве (верхняя часть побегов до 20 см с соцветиями) дубильных веществ (ДВ) – полифенольных соединений, защищающих растение от повреждений и неблагоприятных внешних воздействий.

Двулетние (2003-2004 гг.) исследования показали следующее. ДВ распределены в траве Д. обыкновенной неравномерно, и их содержание существенно изменяется в ходе онтогенеза.

У душицы уже в период активного роста в листьях уровень содержания ДВ высокий (33,6-35,8%), именно в них локализован активный синтез и накопление полифенолов. Во время генеративной фазы, когда растение особо нуждается в защитных веществах, количество ДВ увеличивается. Так в фазу *бутонизации* количество этих соединений в листьях увеличивается до 34,1-40,1%, но основным аттрагирующим центром уже становятся соцветия, в них накапливается до 44,2% ДВ. Во время *массового цветения* происходит снижение количества ДВ, как в листьях (26,7-39,2%), так и в соцветиях (26,3-36,7%), что обусловлено их тратой на синтез антоцианов в бутонах, цветках, а также на выполнение основных защитных функций. В фазу *плодоношения* на фоне общего снижения количества ДВ в траве душицы к концу вегетации основным местом их локализации вновь становятся листья (24,4-28,5%), а в репродуктивных органах их уровень существенно падает (до 14-19%). Это связано с опадением лепестков, частичной потерей листьев, с общим снижением синтетических процессов, преобладанием распада в метаболизме растений, готовящихся к глубокому физиологическому покою, а также в связи с возможным оттоком ДВ в корневища. В стеблях на протяжении всей вегетации наблюдается наименьшее количество ДВ (6,5-12,3%)., поэтому доля их содержания в лекарственном сырье душицы должна быть минимальной.

**Участие фитохромов А и В в регуляции устьичных движений
на примере *Pisum sativum* L. и его бесхлорофильного мутанта *XL18***

Кочетова Г.В., Константинова С.В., Баитанова У.Б.

Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова

В спектре действия светозависимого движения устьиц присутствуют максимумы в синей и красной областях. В ответах устьиц на синий свет участвуют дополнительные рецепторы синего света. В последнее время обнаруживается всё больше доказательств тому, что и действие красного света на устьица обусловлено не только работой фотосинтеза, но и фоторецепторов красного света. Ранее в нашей группе при исследовании транспирационных ответов у бесхлорофильного мутанта гороха *XL18* была показана красная/дальнекрасная (К/ДК) обратимость устьичных ответов. Хотя обратимость характерна только для части фитохром-зависимых ответов, а именно — низкоинтенсивных, регулируемых светостабильным фитохромом В, — не исключена возможность участия в процессе и фотолабильного фитохрома А.

Наиболее корректным доказательством участия предполагаемого фоторецептора в исследуемом физиологическом ответе является совпадение спектра действия этого ответа со спектром поглощения фоторецептора. Для выделения фитохром В-зависимых устьичных ответов из суммы светозависимых ответов были подобраны следующие оптимальные условия: длительность темновой адаптации около 6,5 часов; оптимальные параметры предосвещающего К света — $\lambda = 650$ нм, интенсивность $2,4 \text{ Вт/м}^2$ в течение 20 минут; освещение ДК светом исследуемой длины волны и интенсивности в течение 20 минут; измерения можно проводить в любое время дня, т.к. ответ не зависит от времени суток, в отличие от фотосинтетического.

С учётом этих условий к настоящему моменту получены световые кривые для двух длин волн действующего ДК света при 726 и 780 нм. Раннее дозовое насыщение световых кривых, а так же их нелинейный характер в полулогарифмических координатах, говорит об участии более одного рецептора в ответах устьиц на дальний красный свет, т.е.: как фитохрома В, так и фитохрома А.

Влияние регуляторов роста на ризогенез сахарной свеклы в культуре *in vitro*

Коломиец Ю.В., Кляченко О.Л.

Национальный аграрный университет, г. Киев, Украина

Селекционный процесс сахарной свеклы как двухлетней культуры длится 15-16 лет. Для его интенсификации эффективно применение биотехнологических методов, в частности культуры тканей и клеточной селекции.

Объектами исследований были проростки 12 генотипов сахарной свеклы: сорта Белоцерковская односемянная 45, Ялтушковская односемянная 64, диплоидные гибриды: Украинский МС 70, Верхняцкий МС 63, Уладово-Верхняцкий МС 37, Ялтушковский ЧС 72, триплоидные гибриды: Белоцерковский МС 57, Александрия, Каверось, Лена, Перла, Роберта. Проростки получали на модифицированной среде Murasige & Scoog, дополненной 2 мг/л ИМК; 0,05 мг/л БАП; 2,5 мг/л ГК и культивировали их при температуре +25°C, освещении 4 клк, фотопериоде 16 ч. Для укоренения проростки высаживали на питательные среды: MS1 (0,5 мг/л НОК), MS2 (0,5 мг/л ГК + 2 мг/л ИМК), MS3 (2 мг/л ИМК).

Важным этапом в получении меристематических растений, готовых для высадки в почву, является процесс укоренения проростков, которые развиваются из изолята. Для укоренения отбирали проростки с развитыми листьями, одного размера и высаживали на питательную среду. Наибольшие результаты по укоренению исследованных сортов и гибридов отмечали на среде, которая содержала НОК в концентрации 0,5 мг/л. Для сортов Ялтушковская односемянная 64 и Белоцерковская односемянная 45 процент укоренения составлял соответственно 92% и 94%, для диплоидных гибридов Ялтушковский МС 72 и Верхняцкий МС 63 — 98% и 92%, для триплоидных гибридов Каверось и Роберта — 96% и 94%. Активного укоренения на других модификациях среды не наблюдали. Наименьший процент укоренения растений-регенерантов наблюдали на среде Murasige & Scoog, дополненной ИМК в концентрации 2 мг/л, для сортов Ялтушковская односемянная 64 и Белоцерковская односемянная 45 — 10% и 14%, для диплоидных гибридов Ялтушковский МС 72 и Верхняцкий МС 63 — 18% и 8%, для триплоидных гибридов Каверось и Роберта — 12% и 14% соответственно.

УДК 581.14:577.17

Влияние уровня засоления NaCl и обработки 6-БАП на гормональный статус пшеницы
Кузнецова С.А.

Московский государственный областной университет

В задачу настоящей работы входило выяснение особенностей гормонального баланса пшеницы в условиях солевого стресса NaCl и обработки 6-БАП.

Исследования проводились на пшенице сорта МИС в условиях вегетационного опыта в сосудах Митчерлиха. Солевой стресс 213мМ и 253мМ создавали путем внесения в среду раствора NaCl. Растения опрыскивали 6-БАП (конц. $4 \cdot 10^{-5}$ М) в фазу кущения, контрольные растения обрабатывали водой. Иммуноферментный анализ проводили в соответствии со схемой, разработанной Кудояровой с сотр.

В процессе онтогенеза на фоне засоления наблюдалось снижение уровня зеатина и ИУК. Так, в варианте 213мМ NaCl в почве уменьшение уровня зеатина в среднем составило 20%, ИУК – 25% к контролю. При более высокой концентрации действие соли сказалось в большей степени. Содержание АБК повысилось при концентрации NaCl в почве 213мМ на 20%, тогда как в варианте 253мМ – на 36% по сравнению с контролем. В результате опрыскивания растений 6-БАП на фоне засоления отмечено увеличение содержания зеатина и ИУК и некоторое снижение уровня АБК. В варианте с концентрацией NaCl в почве 213мМ обработка 6-БАП позволила довести до уровня контроля (зеатин) и даже несколько превысить его (ИУК). При более высокой концентрации NaCl в почве влияние 6-БАП проявилось в меньшей степени.

Регуляторное действие фитогормонов во многом определяется их соотношением. На фоне засоления под влиянием обработки 6-БАП отмечено увеличение соотношения З+ИУК/АБК по сравнению с необработанным вариантом. Так, если в варианте 213мМ NaCl в фазу колошения соотношение составило 2.00, то при совместном действии 6-БАП и соли – 2.99. Это связано, с одной стороны, с увеличением уровня зеатина и ИУК и снижением содержания АБК – с другой при опрыскивании растений 6-БАП. Таким образом, 6-БАП оказывает протекторное влияние, сдвигая соотношение гормонов в сторону ростстимулирующих.

**Содержание свободного пролина в различных частях зеленых и
этиолированных проростков пшеницы в норме и при гипертермии**
*Лебедева А.С., Ундрицова Т.М., *Французова В.П.*

**Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского*

Накопление пролина в вегетативных частях растений продемонстрировано при различных видах стресса. Целью данной работы являлось изучение влияния гипертермии (42°C, 2 часа) на содержание свободного пролина в различных частях проростков пшеницы, выращенных в темноте и на свету. Анализ проводили на 2, 5 и 7 сутки прорастания, содержание пролина определяли в листьях, зерновках, корнях. Уровень свободного пролина ($\text{мкмоль} \times \text{г}^{-1}$ сырой массы) существенно выше в зерновках. Максимум содержания пролина в зерновках приходится на 5 сутки, что совпадает с максимумом активности протеаз (цистеиновых и аспартильных). Наиболее выраженное увеличение содержания пролина в ответ на тепловой шок (ТШ) у этиолированных и зеленых проростков отмечено в листьях (в 2-2,5 раза); в корнях уровень этой аминокислоты возрастал в 1,2-1,4 раза. Незначительное термоиндуцированное увеличение пролина в зерновках происходит только у 7-суточных проростков; зерновки 3-5 дневных проростков в опытном варианте (ТШ) не отличались от контроля. Вероятно, это связано с высокой интенсивностью расщепления на ранних сроках прорастания запасных белков, богатых пролином. Образующегося при этом пролина достаточно для выполнения защитной функции. Кроме того, нами показано снижение уровня протеолиза в зерновках при гипертермии. Реакция вегетативных частей проростков, выращенных на свету, была ярче. Это позволяет предположить, что повышение содержания пролина в листьях и корнях связано не только с оттоком его из зерновки, но и синтезом *de novo*. Таким образом, протекторная роль пролина характерна не для всех частей проростков злаков. В зерновках, очевидно, такую роль выполняют иные соединения, к числу которых могут быть отнесены моно- и олигосахариды, полиамины, некоторые органические кислоты.

**Изучение физико-химических свойств рецепторов цитокининов АНК3, АНК4
на модели трансгенной *E. coli***

Ломин С. Н., Шмюллинг Т., Романов Г. А.

*Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева РАН, Москва, Россия
Берлинский свободный университет, Берлин, Германия*

Цитокинины являются одними из пяти классических гормонов растений. Молекулярный механизм изучается сравнительно недавно. Первым этапом передачи сигнала в клетке является рецепция. Рецепторы цитокининов представляют собой гибридные сенсорные гистидинкиназы. У *Arabidopsis thaliana* известны три рецептора цитокининов: АНК2, АНК3, АНК4. В качестве объекта использовали *E. coli*, трансформированную генами АНК3 и АНК4. Свойства рецепторов изучали при помощи радиорецепторного метода, используя радиоактивно меченный *транс*-зеатин. Установлено, что белки не связывают другие фитогормоны, то есть специфичны к цитокининам. Используя метод Скэтчарда, определены равновесные константы связывания, которые показывают высокое сродство АНК3 и АНК4 к *транс*-зеатину. Это доказывает, что исследуемые белки обладают свойствами рецепторов. В ходе экспериментов показано, что связывающая способность рецепторов зависит от рН инкубационного раствора (измерения проводили при рН 5,0-9,0). Оптимум связывания для АНК3 находится в диапазоне 7,0-7,5, а для АНК4 – 6,5-7,0. Связывающая способность рецептора резко падает в кислой области и менее заметно уменьшается при щелочных рН. На активность рецепторов слабо влияют двухвалентные катионы кальция, магния, марганца. Ионная сила раствора слабо подавляет активность АНК4, в то время как оптимум для АНК3 находится в диапазоне концентраций одновалентных катионов 0,2-0,3 мМ. Установлено, что синтетический цитокинин тидиазурон (производное фенилмочевины) связывается в том же сайте рецептора, что и *транс*-зеатин, несмотря на его химическое несходство с природными цитокининами.

**Особенности динамики накопления аскорбиновой кислоты
в листьях и плодах шиповника майского**

Макарова Т.Н.

Удмуртский Государственный Университет, Россия

Двухлетние (2003–2004 гг.) исследования Шиповника майского, произрастающего в разных экологических условиях на территории Удмуртии показали, что накопление аскорбиновой кислоты (АК) в листьях происходит в начальный период вегетации. Максимальное ее количество приходится на фазу окончания цветения (6.07.2003 — 45,93 мг%, 7.07.2004 — 72,25 мг%), что отличает шиповник от других растений, у которых максимум АК наблюдается в период бутонизации и массового цветения. Вероятно, эта особенность шиповника связана с характерным для него апомиксисом. В дальнейшем на протяжении всего периода образования и созревания плодов количество АК в листьях снижается и в начале сентября составляет в 2003 г. — 10,62 мг%, в 2004 г. — 6,40 мг%, тогда как в плодах увеличивается.

Накопление АК в плодах происходит как за счет оттока ее из листьев, так и собственного синтеза, который, как известно весьма активен в органах с мощно развитой хлоренхимой. Кроме того, плоды шиповника в отличие от листьев характеризуются отсутствием фермента аскорбинатоксидазы, поэтому в них возможно высокое и стабильное содержание АК.

АК присутствует уже в незрелых зеленых плодах в начале августа (в 2003 г. — 157,962 мг%, в 2004 г. — 136,576 мг%), что в 6-10 раз больше чем в листьях в этот же период (соответственно 15,919 мг% и 24,872 мг%). Наибольшее ее количество содержится в спелых, красных плодах в конце сентября (в 2003 г. — 1306,97 мг%, в 2004 г. — 1453,91 мг%). При механическом повреждении плодов (склеивание птицами) АК перестает накапливаться, и остается на уровне предшествующем повреждению (508,49 мг%). После первых осенних заморозков, количество АК в плодах резко уменьшается с 1465,18 мг% до 602,56 мг%.

В листьях и плодах шиповника, произрастающего в хорошо освещенных местообитаниях содержание АК выше (в период максимального накопления составляет в листьях — 65,235 мг%, в плодах — 1440,898 мг%), по сравнению с затененными местообитаниями (соответственно — 56,460 мг% и 1346,047 мг%).

Начальные этапы роста и морфогенеза проростков *Cucurbitaceae*
и возможности их модификации
Омарова Зумруд Абакаровна
Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия

Однодневные Пр культивировали в нестерильных условиях (по 30-35 шт. в вар.) на среде, содержащей макро- и микросоли по Мурасиге-Скуга в разведении 1:7 при естественной смене дня и ночи (ЕД); в полной темноте (Т); путём перевода на ЕД после 7 сут. экспонирования Пр в Т. Эти варианты соответственно обозначены I-III. В последнем режиме (III) культивировали также и недельные Пр (вар. IV). Вар. I и III сочетались с опрыскиванием семядолей (С) раствором ГБ (20 мг/л). Каждые 5 сут. определяли линейные размеры и биомассу интактных структур у Пр. Отмечали сроки формирования 1-го и 2-го листа, сроки отмирания 50% площади пластинки С. Содержание сухой биомассы С, Г и корневой системы (КС) у Пр тыквы и кабачка по вариантам совпадает с показателями изменения линейных их размеров. В вар. II у Пр обоих объектов наблюдается задержка прироста линейных размеров С даже при интенсивном удлинении Г. У Пр тыквы при этом усиливается рост КС в длину. После переноса Пр из Т на ЕД (вар. III) рост Г прекращается, а С зеленеют и увеличиваются в размерах. Величина соотношений линейных размеров интактных структур проростков с их сырой и сухой биомассой в Т и при чередования Т с ЕД (вар. II, III и IV) меняется специфично у объектов. После снятия воздействия (вар. III и IV) показатели сырой и сухой биомассы у интактных структур Пр тыквы и кабачка на 15-25 сут. приближаются к величинам в вар. I. Обработка ГБ независимо от условий освещения в целом способствует накоплению биомассы особенно у Пр тыквы, у которой на 15 сут. опыта сухой вес С, Г и КС превышал контроль (ЕД без обработки ГБ) на 25-30%. Появление эпикотилиа (Э) и развитие первых листьев у объектов коррелируют с подавлением роста Г, а у кабачка ещё и КС. В случае обработки ГБ на 20 сут. сухая биомасса Э у Пр тыквы и кабачка в вар. I составила 123 и 110% от варианта без обработки. Формирование 1-го листа у объектов в вар. I наблюдалось на 9-10 сут. опыта, а в вариантах темноты (II, III и IV) значительно задерживалось, особенно в вар. II (на 10 сут). Коэффициент вариации сроков формирования 1-го листа у обработанных ГБ Пр в вар. I оказался выше, чем без обработки. Материалы дают возможность судить о роли эпигенетических механизмов в росте и морфогенезе Пр.

УДК 581.192

Влияние биологически активных веществ бурой сердцевины березы на антиоксидантную защиту проростков пшеницы в условиях гипотермического стресса

Павлова А.С.

Якутский государственный университет им. М.К. Аммосова, РС (Я)

Антиоксидантная (АО) система живого организма играет существенную роль в процессе адаптации организма и поддержания его гомеостаза в постоянно меняющихся условиях окружающей среды. Исследования ряда авторов показывают, что некоторые растительные препараты могут способствовать увеличению устойчивости АО системы живых организмов.

Цель работы: оценка физиолого-биохимической ценности экстрагированных биологически активных веществ (БАВ) бурой сердцевины березы (БСБ) на примере проростков семян пшеницы.

Ранее нами было установлено наличие в БСБ ряда веществ, обладающих АО свойствами (в т.ч. аскорбиновой кислоты, флавоноидов, сердечных гликозидов, сапонинов) и проведена их количественная оценка. Нами было проведено сравнительное исследование влияния водно-этанольных извлечений из БСБ на компоненты АО системы проростков пшеницы при действии гипотермического стресса (+4°C) и без него. Показана зависимость между концентрацией этанола в экстрагирующем растворе БСБ и влиянием извлечений из БСБ на компоненты АО защиты проростков (содержание низкомолекулярных антиоксидантов, активность пероксидазы). Установлено, что в условиях гипотермического стресса извлечения из БСБ активируют АО защиту проростков на 30-50%. При этом интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) снижается в нормальных температурных условиях на 30-50%, а в условиях гипотермического стресса на 10-80%. Также исследованы цитостатические свойства извлечений из БСБ.

Полученные результаты важны как для понимания биохимических механизмов адаптации березы и соответствующих древесных грибов к гипотермическим условиям, так и для разработки биоактивных комплексов из БСБ.

**Получение трансгенных растений кукурузы *Zea mays* L.
по гену миниантитела к ферритину**

Штратникова В.Ю.¹, Моргачева Т. В.²

¹Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова

²Московский Государственный Университет Инженерной Экологии

Ферритин человека является раковоассоциированным белком. Антитела и мини-антитела к нему могут применяться для целей опухолевой диагностики и лечения. В последние пятнадцать лет развиваются методы получения белков, в т.ч. антител, с помощью растительных систем. Генетическая конструкция была создана в ИМБ им. В. А. Энгельгардта, в группе С.М. Деева, перенесена в *Agrobacterium tumefaciens* и опробована на *Nicotiana tabacum* в фИБХ (Пушино) Е.Г. Семенюк. Генетическая конструкция включала в себя ген фрагмента антитела scFv — переменные концы L- и H-цепей, соединённых пептидным линкером. Этот фрагмент не иммуногенен из-за отсутствия Fc-конца и характеризуется устойчивостью из-за отсутствия дисульфидных связей. Ген находился под контролем 35S CaMV-промотора, в качестве селективного использовался ген nptII, обеспечивающий устойчивость к канамицину.

Трансгенные растения получали в ИФР РАН методом агробактериальной трансформации. Объектом трансформации были семена сорта Аурика. Для набухания семена замачивали в суспензии агробактерии, в которую был добавлен экссудат листьев табака (выделение повреждённой тканью фенольных веществ активирует агробактериальные гены переноса T-ДНК). После двух суток набухания из семян выделяли зародыши и трансформировали их с помощью вакуумной инфльтрации в суспензии агробактерии с добавлением экссудата листьев табака. После 7 дней отбора на канамицине проросшие зародыши были высажены в землю. В результате были получены два растения, для которых методом ПЦР показана вставка целевого гена. Для одного из них доказана экспрессия целевого белка. Эффективность трансформации составила 0.5-1%.

УДК 581.1

Влияние условий выращивания на ионообменные свойства клеточных стенок, изолированных из разных органов растений маша (*Vigna radiata L.*)

Тихонова В. В.

Московский Государственный Университет им. М. В. Ломоносова

Ионообменные свойства клеточной стенки определяют ионный состав экстраклеточного водного пространства и влияют на поступление ионов в клетки.

В данной работе поставлена цель количественной оценки ионообменных свойств клеточных стенок у разных органов растений маша (*Vigna radiata L.*) и определения их зависимости от уровня засоления внешней среды. Опыты проводили на 20-25-дневных растениях, выращенных на питательном растворе Прянишникова с разной концентрацией Na^+ (от 0,3 до 80 мМ) и Cl^- (от 2,3 до 80 мМ). Для характеристики растений, которые росли в разных условиях, определены их сырая масса, ионный статус, а также активность антиоксидантных ферментов. Выделение клеточных стенок проводили путем обработки растительных тканей растворами электролитов и на конечной стадии дистиллированной водой. Микроскопическое исследование образцов клеточной стенки показало отсутствие в них внутриклеточных структур.

С возрастом уровня засоления ионообменная способность клеточных оболочек увеличивается только в гипокотиле, а в остальных органах изменяется незначительно. Получены экспериментальные зависимости ионообменной способности клеточных стенок гипокотилия от рН в диапазоне рН 2÷12 и постоянной ионной силы раствора 250 мМ. С использованием модели Грегора рассчитаны параметры, характеризующие качественный и количественный состав ионогенных групп клеточной стенки. Результаты статистической обработки свидетельствуют, что выбранная математическая модель адекватно описывает исследуемый процесс. Получены новые данные о существовании в структуре клеточной стенки гипокотилия *V. radiata* четырех типов ионогенных групп: азотсодержащих ($\text{pK}_a \sim 3$), двух типов карбоксильных ($\text{pK}_a \sim 4$ и 7), и фенольных ($\text{pK}_a \sim 10$). Показано, что клеточные стенки гипокотилия растений, выращенных в присутствии 20-80 мМ NaCl, содержат в два раза больше карбоксильных групп полигалактуроновой кислоты, чем стенки контрольных растений.

Влияние растворов *p*-аминобензойной кислоты на прорастание семян лекарственных видов растений

Воронова Н.С.

Тюменский государственный университет,
кафедра ботаники и биотехнологии растений

Para-аминобензойная кислота (ПАБК) в определенном диапазоне доз является фенотипическим активатором, вызывающим положительные модификационные изменения ряда признаков. Она образует комплексы с жизненно важными ферментами, активируя их. Образование комплекса обусловлено сильным родством физико-химического потенциала ПАБК и фермента, а не валентным взаимодействием. Мы изучили влияние ПАБК на всхожесть семян и морфометрические параметры проростков лекарственных растений. Лекарственные растения характеризуются низкими показателями всхожести семян, а вопросы интродукции данных видов в настоящее время приобретают особую актуальность.

Изучены особенности интродукции 13 видов лекарственных растений различного эколого-географического происхождения. По комплексу признаков (полнота и пластичность феноритма в разные годы наблюдений, высокая продуктивность, величина варьирования признаков), наиболее перспективной культурой в условиях северной лесостепи Тюменской области является синеголовник плосколистный (*Eryngium planum* L.). Проблемой интродукции данного вида является низкая полевая всхожесть семян (до 30%). В связи с этим, семена синеголовника плосколистного проращивали в растворах ПАБК 0,1, 0,01, 0,05% концентрации при температуре 20⁰С. Биологические свойства семян определены по соответствующим ГОСТам.

Оптимальная концентрация ПАБК составила 0,001%, всхожесть в данном варианте опыта возросла до 90,0% (на 6,0% больше по сравнению с контролем). При этом наблюдалось статистически достоверное увеличение длины корня и длины побега проростка, массы проростка.

Оптимальная доза ПАБК для семян левзеи сафлоровидной (*Rhaponticum carthamoides* Iljin.) составила 0,01%. В данном случае всхожесть достигала 80,0% (на 5,7% больше по сравнению с контрольным вариантом опыта), а также наблюдалось увеличение всех морфометрических параметров проростков (длины корня и побега, длины и ширины семядоли, массы проростка).

Таким образом, ПАБК вызывает положительную активацию ростовых процессов для каждого вида в разных дозах. Увеличение концентрации ПАБК выше оптимального значения вызывало значительное снижение всхожести семян и количественных признаков проростков.