

Биохимические особенности адаптации растений к нефтяному загрязнению среды.

Андреевских Михаил Анатольевич.

Студент.

ГОУ ВПО «Сургутский Государственный Университет» ХМАО - Югры,
Биологический факультет, Г. Сургут, Россия.

PhantomS@inbox.ru

В последнее время загрязнение окружающей среды становится важным внешним фактором, к которому растения эволюционно не приспособлены. Загрязняющие вещества сужают пределы толерантности растений к естественным факторам среды [1].

Применение биоиндикационных методов на уровне метаболических реакций автотрофных организмов необходимо для ранней диагностики экологического неблагополучия. Следовательно, изучение механизмов адаптации растений к антропогенным стрессорам является актуальной задачей.

Целью работы являлось выявление влияния нефтяного загрязнения почв на уровни содержания фотосинтетических и флавоноидных пигментов в листьях *Chamaenerion angustifolium* (кипрей узколистный) и *Artemisia vulgaris* (полынь обыкновенная) и определение возможности использования данных биохимических показателей в экологическом мониторинге.

Сбор материала проводился в летний период 2005 года на территории Западно - Сургутского месторождения. Для исследования были взяты растения *Chamaenerion angustifolium*, *Artemisia vulgaris*, произрастающие на условно-чистой территории Барсовой горы и нефтяных кустовых площадках, характеризующихся однородными условиями произрастания. Отбор проб листьев проводился в 5 повторностях.

Количественное определение хлорофилла *a*, хлорофилла *b* и каротиноидов проводилось спектрофотометрическим методом. Определение содержания суммы флавоноидов определялось фотометрическими методами. Результаты обработаны статистически с помощью программы Excel.

В ходе работы были сделаны следующие выводы:

1. У растений *Artemisia vulgaris*, произрастающих в условиях нефтезагрязнения наблюдается снижение содержания всех фотосинтетических пигментов (хлорофилла *a* – в 1,4-3 раза, хлорофилла *b* – в 2,5-4,2 раза, каротиноидов в 1,1-1,8 раза), причем в меньшей степени каротиноидов, что отражается в возрастании их процентной доли (с 6,8% на чистой территории до 12% на нефтезагрязнении), увеличение соотношения хлорофилл *a* / хлорофилл *b* и возрастание количества флавоноидных соединений (1,3 – 2,5 раза) по сравнению с контролем.

2. Растения *Chamaenerion angustifolium* проявляют реакцию на нефтяное загрязнение среды, выраженную в резком снижении содержания всех фотосинтетических пигментов (хлорофилла *a* в 1,6-3,3 раза, хлорофилла *b* в 1,5-3,4 раза) и в большей степени каротиноидов (в 2-7 раз) со снижением их процентной доли (9,9% – контроль и 7,2% – на нефтезагрязнении), а также увеличении содержания флавоноидных соединений по сравнению с контролем.

3. Наиболее устойчивым к нефтезагрязнению по исследованным показателям видом является *Artemisia vulgaris*, наиболее чувствительным *Chamaenerion angustifolium*. Содержание хлорофиллов, каротиноидов и флавоноидных соединений у этих растений можно использовать для ранней диагностики экологического неблагополучия подверженных нефтезагрязнению территорий.

Участие хлорида в регуляции мембранного потенциала в процессе прорастания
пыльцевого зерна табака

Брейгина Мария Александровна

студентка

Московский Государственный Университет им. М. В. Ломоносова

Биологический факультет, Москва, Россия

E-mail: plantphys@biophys.msu.ru

Прорастание пыльцевого зерна - сложный физиологический процесс, обеспечивающий половое размножение покрытосеменных растений. Зрелое пыльцевое зерно в пыльнике находится в состоянии физиологического покоя. При попадании пыльцы на рыльце происходит быстрая активация всех клеточных процессов для обеспечения максимальной скорости роста трубки и доставки спермиев к зародышевому мешку. Роль транспортных систем плазмалеммы и ионных потоков в прорастании пыльцевого зерна интенсивно изучается, однако данные по этому вопросу далеко не полны, и многие аспекты проблемы практически не исследованы.

В настоящей работе изучали выход хлорида из пыльцевого зерна на ранних этапах активации, а также участие хлоридного транспорта в регуляции мембранного потенциала вегетативной клетки пыльцевого зерна и пыльцевой трубки.

Для определения мембранного потенциала использовали флуоресцентный потенциал-чувствительный краситель DiBAC₄(3) (бис-(1,3- дибутилбарбитуровой кислоты) триметин оксонол). Измерение интенсивности флуоресценции проводили посредством компьютерного анализа микроизображений пыльцевого зерна и пыльцевой трубки. Используя метод Krasznai с соавторами (1995), рассчитывали абсолютные величины мембранного потенциала (мВ). В качестве полностью деполяризованного контроля использовали пыльцевые зёрна или трубки, фиксированные параформальдегидом. В работе использовали моторизованный микроскоп AxioPlan 2 imaging MOT (Zeiss), оснащенный цифровой камерой AxioCam HRc (Zeiss), с программным обеспечением AxioVision 4.2 (Zeiss).

Для выявления выхода хлорида из пыльцевых зёрен в окружающую среду использовали флуоресцентный краситель MEQ (6-метокси-N-этил-1,2-дигидрохиолин). Измерение интенсивности флуоресценции растворов проводили на спектрофлуориметре RF-5301PC (Shimadzu).

Получены данные о выходе хлорида из пыльцевых зёрен в первые минуты инкубации в жидкой среде. Ингибитор анионных каналов NPPВ (5-нитро-2-(3-фенилпропиламино) бензойная кислота), взятый в концентрации, блокирующей прорастание и рост пыльцевой трубки (40 мкМ), существенно подавлял выход хлорида. Вместе с тем, NPPВ влиял на динамику мембранного потенциала в ходе прорастания: он блокировал процесс гиперполяризации плазматической мембраны вегетативной клетки на стадии активации и существенно снижал значение потенциала мембраны пыльцевой трубки. Данные в совокупности свидетельствуют о том, что активность хлоридных каналов необходима для регуляции мембранного потенциала в процессе прорастания пыльцевого зерна. Можно предположить, что эти каналы активируются на самом раннем этапе прорастания и работают в тесной взаимосвязи с H⁺-АТФазой плазмалеммы. Слаженная работа систем анионного и протонного транспорта необходима как для запуска прорастания, так и для роста пыльцевой трубки.

Влияние условий освещения на рост и содержание флавоноидов в каллусной культуре шалфея лекарственного

Дитченко Татьяна Ивановна

к.б.н.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

E-mail: ditchenko@inbox.ru

Растения традиционно являются ценными источниками сырья для получения лекарственных форм с высокой терапевтической активностью и широким спектром действия. Весьма перспективным направлением получения БАВ растительного происхождения в последние десятилетия является метод культивирования клеток лекарственных растений на искусственных питательных средах в виде каллусных или суспензионных культур. Накопление вторичных метаболитов в культуре клеток зависит от ряда факторов. Выход продукта определяется генотипом донорного растения, правильным выбором его ткани или органа для введения в культуру, зависит от гетерогенности культивируемых клеток. Большое влияние на продукцию БАВ в культуре клеток растений оказывают состав питательной среды и физические условия культивирования, например, свет. Стимулирующее действие света на образование вторичных соединений в культуре клеток показано на примере каротиноидов, эфирных масел, пластохинонов, антоцианов, катехинов, алкалоидов, витаминов и др. Однако в некоторых случаях свет оказывает ингибирующее действие, подавляя синтез вторичных метаболитов. В связи с этим в настоящей работе было предпринято изучение возможности модификации скорости роста каллусной культуры шалфея лекарственного и накопления в ней флавоноидов при варьировании условий освещения.

Для культивирования каллусов использовалась питательная среда Мурасиге и Скуга, которая включала следующую комбинацию регуляторов роста: 0,2 мг/л 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты, 0,5 мг/л кинетина, 1,0 мг/л индолилуксусной кислоты. Выращивание каллусов осуществлялось в условиях микробиологического термостата при 24,5 °С в темноте, а также на свету в условиях лабораторного фитостата при интенсивности освещения 3000 лк. Использовался спектрофотометрический метод количественного определения содержания флавоноидов в пересчете на кверцетин.

Анализ кривых роста каллусных культур шалфея лекарственного, выращиваемых в темноте и на свету, показал отсутствие статистически достоверных различий между ними. В течение первых 3-5 суток ростового цикла прирост сырой биомассы каллусов независимо от условий светового режима происходил медленно, затем с 6-х по 21-е сутки с нарастающим ускорением (логарифмическая фаза роста), а на 27-31 сутки устанавливался на стационарном уровне. При этом было отмечено появление светло-зеленой окраски у каллусов, культивируемых на свету, тогда как цвет каллусов, выращиваемых в темноте, оставался молочно-белым. Несмотря на отсутствие видимых различий в скорости ростовых процессов каллусов шалфея лекарственного при разных условиях освещения определение содержания флавоноидов показало более высокий уровень их накопления в культуре, выращиваемой в темноте. Сумма флавоноидов в пересчете на кверцетин в стационарной фазе роста каллусов в данном варианте была в 1,7 раза выше по сравнению с каллусами, культивируемыми на свету. Таким образом, свет оказывал ингибирующее воздействие на биосинтез данных вторичных соединений в каллусной культуре шалфея лекарственного.

Характеристика изоферментных спектров пероксидазы, ИУК-оксидазы и фенолоксидазы пшеницы в норме и при высокотемпературном воздействии

Французова Вера Петровна, Томилин Михаил Вадимович, Олюнина Любовь Николаевна

аспирант (без степени), студент (без степени), сотрудник (к.б.н., доцент)
Нижегородский государственный университет им. Н.И.Лобачевского,
Биологический факультет, Нижний Новгород, Россия

E-mail: vpfrantsuzova@rambler.ru

Изменения в уровне фитогормонов - важный компонент ответа клеток на внешнее воздействие. Тепловой шок (ТШ) вызывает быстрый (10-15 мин) концентрационный всплеск свободной формы индолилуксусной кислоты (ИУК), с последующим снижением [1]. Повышение уровня ИУК происходит за счет распада (деконъюгации) неактивных форм; механизм снижения термоиндуцированного всплеска ИУК неясен. В деградации ИУК участвует ИУК-оксидазная ферментная система: фермент, по данным многих авторов – изоформы пероксидазы (ПО), и ингибитор фенольной природы, уровень которого могут контролировать как фенолоксидаза (ФО), так и пероксидаза (мультисубстратный фермент). В данной работе была исследована динамика изменений в спектре изоформ ИУК-оксидазы (ИУКО), ПО, ФО и сумме растворимых фенольных соединений (ФС) у проростков пшеницы при действии ТШ. Объект исследований – 5 дневная этиолированная пшеница сорта «Московская-35». Тепловой шок (42 °С) варьировали от 0 до 60 минут. Содержание ФС определяли колориметрическим методом с реактивом Фолина-Дениса. Концентрацию белка определяли по методу Lowry. Ферментативную активность белков после нативного диск-электрофореза в ПААГ определяли методом Endo для ИУКО, ПО и реакцией с пирокатехином и, затем, с фенилендиамином для ФО [2,3].

Выявлено, что в корнях 11 растворимых форм ПО и 7 ионсвязанных; из них 4 с Rf 0.11, 0.15, 0.73 и 0.77, общие для обеих фракций, обладают ИУК-оксидазной активностью; фенолоксидазную активность проявляли 9 растворимых форм и 8 ионсвязанных. В побегах зафиксированы 7 растворимых и 5 ионсвязанных ФО, для обеих белковых фракций характерны 7 изопероксидаз и 3 зоны с ИУК-оксидазной активностью. Тепловой шок резко изменял активность отдельных изоформ ПО, ИУКО; наибольшие изменения отмечены для зон с Rf 0.11, 0.77, и максимум их активации зарегистрирован после 5 (растворимая фракция) либо 30 (связанная) минут экспозиции. Появления или исчезновения новых изоферментов в спектре ПО, ИУКО при высокотемпературном воздействии не обнаружено. Накопление растворимых ФС зафиксировано при 30 (корни) и 60 (листья) минутной гипертермии. Интересно, что 30 минутный ТШ сопровождался падением активности ФО корней на 50% (связанная) и 73% (растворимая фракция) по сравнению с контролем. Высокое содержание ФС коррелировало с ранее выявленным снижением уровня ИУК, данную реакцию можно рассматривать как часть механизма защитного торможения роста растений при действии высоких (стрессующих) температур.

The biosynthesis of ecdysteroids with plants
A.M. Gazaliyev, A.P. Andreyeva, I.A. Agafonova

The East- Kazakhstan State University after S. Amanzholov
E-mail: ann_biotech@mail.ru

A great problem nowadays is the protection of valuable agricultural plants from the destruction by insects. The class of insects develops simultaneously with the appearance of new chemical pest-killers that leads to environment pollution. To solve this actual problem there is the aim of the agricultural biotechnology to produce new kinds of plants resistant to illnesses and insects with the help of genetic engineering methods.

The aim of the research: to study delicate mechanism of ecdysteroids biosynthesis in the cultivation of *Serratula coronata* L. (*S. coronata* L.) cells and *Serratula cardunculus* Schischk (*S. cardunculus* S.).

Ecdysteroids represent hydroxylation sterols. They display hormone activity, causing insect moulting. Ecdysteroids are spread in plants. They are related to various taxonomic not concerned families. They are had both with the lowest and the highest plants, including annual and perennial plants. They are found in all organs of the plants, accumulating in apical parts of growing sprouts, in roots or in seeds. Phytoecdysteroids are used in medicine as medications of anabolic, adaptogenic and toning action and also as biostimulants in live-stock breeding. For instance, fern *Polypodium*, different kinds of *Ajuga*, *Serratula* and *Leuzea* (*Asteraceae*) can be referred to the plants being characterized by high contents of ecdysteroids.

The way of biosynthesis in plants and animals, perhaps mushrooms, are different. The predecessors of ecdysteroids are acetate, mevalonate, cholesterol, ketol, ketodiol, edyzon, ponasteron, 2,22-dioxyecdizon, 22,25-dioxyecdizon. Biosynthesis can be considered as formation during initial stages α - edyzon and ponasteron A. Ecdysterone contents in cell cultures in different species makes: *Rhaponticum carthamoids* – 0,001-0,01; *Serratula coronata* – 0,02-0,09; *Ajuga reptans* – 0,015-0,1. The structure of callus tissue, the speed of its growth depend on nutrition factors combination and illumination. On the whole ecdysteroids biosynthesis in suspension cultures is a little higher than in cell cultures. The perspective method of biotechnology is root transformed culture. While inoculation of sterile germs by cultures of *Agrobacterium rhizogenes* infection and agro bacterium transformation take place in the form of barbed roots. The advantage of the technology in comparison with field cultures becomes apparent in the kind of constant source of reproduction, fast growth and frequency of individuals' regeneration; exterior growth hormones are not required. Changed chemical mixture of secondary metabolites, acquired by the methods of biotechnology leads to the loss of biological activity that is characteristic of the plants.

It is interesting to point out how specific are the corresponding ferments: if they are not specific, then the probability of synthesis of several different molecules with comparatively small set of ferments. It is especially important if to take into account that plants also contain brassinosteroids – a new class of vegetative structurally relative ecdysteroid. Brassinosteroids biosynthesis is studied well and it is shown that stereochemistry of hydroxyl group in the position of C2 and C22 with these compounds is different from the corresponding hydroxyls with ecdysteroids. However, it can not be excluded that a number of reactions is accomplished by the same ferments in both groups of compounds and also while kardenolids biosynthesis. We can hope that the answer to this question will be received in the recent years owing to the fast development of molecular-genetic approaches to the problem. There was a success in isolation and in some cases cloning the genes responsible for the synthesis of some of those ferments.

Metabolism of *Thermopsis lanceolata* alkaloids and an opportunity of its correction

Gazaliev A.M., Andreeva A.P., Afanaseva A.G., Bulgakova O.V.

The East Kazakhstan State University after S.Amanzholov

ann_biotech@mail.ru

Alkaloids are vegetative establishments of complex and original structure with nitrous heterocycles in the basis. For a long time they drew researchers' attention because of their unique and specific physiological effect on alive organisms. Not all the representatives of the globe's flora contain these unique substances. Alkaloid cytosine is to be found mainly in the plants of the fabaceous family - Fabaceae. For the Cytisine production the seeds of *Thermopsis lanceolata* R.Br (*T.lanceolata* R.Br) and *Cytisus laburnum* (*C.laburnum*) are used as a raw material.

Respiration initiation is characteristic for cytosine. Simultaneous initiation of sympathetic nodes and paranephroses result in the arterial pressure rise. However, the complexity of the yielded alkaloid excretion and the purification from *T. lanceolata*-seeds and high cost of the drug make it expedient to produce cytosine by biotechnological methods.

The purpose of the review is to study the primary and secondary metabolites biosynthesis laws in the *T. lanceolata* cell culture on agarlike media and in suspension culture.

In the basis of the biosynthesis of the quinolizine row alkaloids there is a formation of corresponding heterocycles. Lysine turns into amine cadaverine which is a direct precursor of cytosine, anabasine, lupinin, sparteine, and other alkaloids.

L- lysine (α , ϵ -aminocaproic acid) is known to be irreplaceable and a very important amino acid. It is not synthesized in the cells of animals. Two ways of its formation in living organisms are known: aminoadipinic and diaminopimelic ones.

The use of the method of cell culture on agarlike or liquid nutrient media is rather perspective as an alternative way of alkaloid reception. The reception of *T lanceolata* cell culture, accumulating BAM, is represented complex, but quite a solvable problem. Resorting to the SPCC methods, and also optimizing cultivation conditions, it is possible to get the primary metabolites (aspartate, lysine) strains-producers at the first stage of the experiment. At the second stage of the cultivation it is necessary to research the chemical and physical factors influence on the biosynthesis and the accumulation of the secondary metabolites (cytosine). It is recommended to optimize the organic additions (corn extract, yeast extract, casein hydrolysate) and to stabilize physical factors (t 25⁰ C, pH 5,6-5,8, darkness).

To control the stages of alkaloid biosynthesis in the *T. lanceolata* cell culture it is expedient to apply a histochemical method to reveal the intermediate products of the synthesis.

Qualitative histological colouring will allow to determine the level of the callus tissue specialization and to reveal the law of chemical and physical factors influence.

Цито-гистологическое изучение особенностей органогенеза в каллусной культуре мягкой пшеницы¹

Катасонова Анна Александровна²

младший научный сотрудник

Институт биологии Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия

E-mail: kruglova@anrb.ru

Широкое применение клеточных технологий для генетического улучшения зерновых злаков до сих пор ограничивается трудностями, возникающими при регенерации растений из культуры клеток, тканей и органов. Решение проблемы повышения выхода растений-регенерантов *in vitro* во многом связано с изучением типов органогенеза в каллусе и выявлением особенностей типов, ведущих к формированию регенерантов. Установлено, что органогенез в культуре клеток, тканей и органов растений включает в себя три основных этапа: 1) приобретение компетентности клетками экспланта (т.е. способности отвечать на гормональные сигналы); 2) детерминация компетентных клеток под воздействием экзогенных регуляторов роста; 3) морфогенез, протекающий независимо от экзогенных регуляторов роста (Yancheva et al., 2003). Цель исследования – изучить особенности процесса органогенеза в каллусах, полученных из незрелых зародышей пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Незрелые зародыши мягкой пшеницы сорта Симбирка извлекали из зерновок на 15-17-е сутки после опыления, помещали на питательную среду Мурасиге и Скуга (Murashige, Skoog, 1962) с добавлением 2,0 мг/л 2,4-Д и 0,2 мг/л кинетина и культивировали при +26⁰С в темноте. Полученные каллусы пассировали на исходную питательную среду Мурасиге и Скуга без 2,4-Д и культивировали при +26⁰С на свету. Для цито-гистологического изучения каллусы фиксировали, готовили постоянные препараты по З.П. Паушевой (1988), изучали при помощи светового микроскопа. В результате культивирования каллусов из незрелых зародышей мягкой пшеницы на питательной среде Мурасиге и Скуга без 2,4-Д наблюдали образование почек, корней, либо почек и корней одновременно. В части каллусов образования органов не наблюдали. Цито-гистологический анализ каллусов, в которых визуально не наблюдали образования каких-либо органов, показал наличие в них морфогенетических очагов, являющихся ранним этапом формирования растений-регенерантов. Морфогенетический очаг состоит в основном из недифференцированных меристематических клеток, способных к дальнейшему развитию. Цито-гистологический анализ каллусов, в которых визуально наблюдали образование органов, показал, что в них присутствуют и зачатки органов – корней и почек, и еще не реализованные морфогенетические очаги. Таким образом, в каллусах, полученных из зародышей пшеницы, введенных в культуру *in vitro* на одной стадии развития и культивируемых на одинаковой питательной среде, индуцировались различные типы органогенеза. На наш взгляд, это связано с неоднородностью каллуса, который состоит из групп клеток, реализующих морфогенетические потенции различными путями (Батыгина, 1987). Окружающие каллусные клетки служат буферной системой между очагами и питательной средой и определяют направленность морфогенеза так, что одни очаги формируют почки, другие – корни.

¹ Тезисы доклада основаны на материалах исследований, проведенных в рамках гранта РФФИ (№ 05-04-97911) и программы «Ведущие научные школы РФ» (грант НШ.4834.2006.4).

² Автор выражает признательность профессору, д.б.н. Н.Н. Кругловой за помощь в подготовке тезисов.

Цито-гистологические и физиологические особенности формирования эмбрионов пшеницы в каллусной культуре зародышевого происхождения¹

Кочемасова Мария Валерьевна²

студентка

Башкирский государственный университет, Уфа, Россия

E-mail:kruglova@anrb.ru

Перспективное направление биотехнологии растений – метод культуры *in vitro* незрелых зародышей, связанный с формированием каллусов, образованием в них эмбрионов, дающих начало полноценным фертильным растениям-регенерантам. Цель исследования состояла в выявлении цито-гистологических особенностей формирования эмбрионов в каллусной культуре *in vitro* зародышевого происхождения и оценке роли фитогормона абсцизовой кислоты (АБК) на отдельных этапах экспериментов. Объектом исследования послужил сорт яровой мягкой пшеницы Симбирка. Каллусы получили через 5-7 сут культивирования незрелых зародышей на питательной среде МС (Murashige, Skoog, 1962) с добавлением 2.0 мг/л 2,4-дихлорфеноксисукусной кислоты. Каллусы выдерживали на этой же среде в течение 20-22 сут для наращивания массы. Затем каллусы переносили на питательную среду МС с добавлением АБК в различной концентрации. Контролем служили каллусы, перенесенные на питательную среду МС без АБК. Методом светооптических исследований во всех вариантах эксперимента в каллусе отмечено образование морфогенетических очагов (МО), состоящих в основном из недифференцированных меристематических клеток, способных к дальнейшему развитию. Количество образовавшихся МО в каллусах зависело как от концентрации АБК, так и от длительности культивирования каллусов *in vitro*. В контроле появления МО не отмечено вплоть до окончания культивирования. При концентрации АБК в 1.0 мг/л МО появляются на 5 сут культивирования *in vitro*, в количестве трех. На 10 сут культивирования количество МО увеличивается до 4, на 20 сут – до 5. При концентрации АБК в 2.0 мг/л появление МО отмечено уже на 1 сут. Далее, в процессе культивирования, количество МО резко возрастает: на 5 сут – 6 очагов, на 15 сут – 7 очагов. На 20 сут отмечено максимальное в условиях выполненных экспериментов количество морфогенетических очагов. Такой режим культивирования можно считать оптимальным. При концентрации АБК в 3.0 мг/л отмечено появление только одного МО на 5 сут. В ходе дальнейшего культивирования *in vitro* количество очагов не возрастает. При переносе каллусов на питательную среду для регенерации по прописи Blaydes (1966) МО дают начало эмбрионам, из которых регенерируют растения. При этом эмбрионд формируется на 9-12 сут культивирования путем реорганизации всего МО. Это может свидетельствовать о том, что процесс образования и развития МО является, по сути, незавершенным эмбриогенезом. К 15-17 сут культивирования на питательной среде Blaydes из зрелых эмбрионов образовывались проростки растений-регенерантов, которые далее развивались с прохождением типичных для пшеницы фенофаз всходов, 3-го листа и кушения. После этого растения-регенеранты извлекали из пробирок и переносили в условия *ex vitro* в вегетационные сосуды с почвой и доводили до фенофазы полной спелости зерна.

Литература

1. Murashige, T., Skoog, F. (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures // *Physiol. Plant.*, № 15 (3), p. 473-497.
2. Blaydes, D.F. (1966) Interaction of kinetin and variors inhibitors in the growth of soybean // *Physiol. Plant.*, № 19 (13), p. 748-753.

¹ Тезисы доклада основаны на материалах исследований, проведенных в рамках программы «Ведущие научные школы РФ» (№ НИИ 4834.2006.4).

² Автор выражает признательность профессору, д.б.н. Кругловой Н.Н. за помощь в подготовке тезисов.

Влияние физиологически активных веществ на биометрические показатели озимого ячменя

Коростелёв Максим Николаевич

аспирант

*ФГОУ ВПО Ставропольский государственный аграрный университет,
агрономический факультет, Ставрополь, Россия*

Применение физиологически активных веществ является неразрывной составной частью мероприятий по повышению урожайности сельскохозяйственных культур. Cu, Mo, Mn, Co, Zn, B, Fe и другие повышают активность многих ферментов и ферментных систем в растительном организме и улучшают использование растениями питательных веществ из почвы и удобрений. Микроэлементы способны ускорять развитие растений и созревание семян, повышают устойчивость растений к неблагоприятным условиям внешней среды, а также делают их устойчивыми против ряда бактериальных и грибковых болезней. Профилактические дозы биологически активных микроэлементов, вносимые независимо от состава почвы, не влияют на общее содержание микроэлементов в почве, но оказывают благоприятное воздействие на состояние растений. При их использовании исключается состояние физиологической депрессии у растений (Шеуджен, 2006).

Исследования были проведены в экспериментальном севообороте Ставропольского государственного аграрного университета в 2006 году, расположенного в умеренно влажной зоне Ставропольского края с целью изучить влияние физиологически активных веществ на биометрические показатели и урожайность озимого ячменя сорта «Михайло». Исследования проводились на фоне рекомендованной системы удобрений (N₉₀P₈₀K₃₀), некорневую подкормку проводили весной в фазу кущения культуры следующими препаратами: Плантафол, Лигногумат, Рексолин, Акварин 5, Гумат Na.

Таблица 1. Формирование структуры урожая растениями озимого ячменя в зависимости от вида физиологически активных веществ в 2006г.

Система удобрений	Высота растений (см)	Длина колоса (см)	Число стеблей на 1 м ² , шт	Общая кустистость	Продуктивная кустистость	Масса 1000 зерен, г.	Урожайность
Контроль (фон N ₉₀ P ₈₀ K ₃₀)	71,6	8,5	440	6,6	6,4	39,3	48,0
Плантафол 250 г/г/л	75,7	9,4	497	7,1	6,3	41,9	54,8
Лигногумат 0,01% р-ор	71,9	9,3	463	7,4	6,5	40,7	49,6
Рексолин 100 г/га	73,5	9,1	486	6,1	5,7	41,8	53,7
Акварин 5 1,5 кг/га	70,7	8,5	422	6,1	5,7	37,7	43,4
Гумат Na 0,01% р-ор	72,8	8,7	450	8,8	8,1	42,8	48,6

Изучаемые физиологически активные вещества оказали положительное влияние на формирование структуры урожая, кроме Акварин 5, которое снизило все биометрические показатели по сравнению с естественным агрохимическим фоном, а урожайность составила 43,4 ц/га, что на 4,6 ц ниже контроля. В зависимости от вида ФАВ по сравнению с контролем, увеличилась: высота растений на – 0,3–4,1 см; длина колоса на – 0,2–0,9 см; число стеблей на 2–11%; общая кустистость – на 7–33%; продуктивная кустистость – на 1,5–22%; масса 1000 зерен – на 1,4–3,5 г.

Максимальная высота растений, длина колоса, число стеблей на 1 м² отмечается на варианте с применением препарата Плантафол (75,7 см, 9,4 см, 497 шт./м² соответственно), а общая и продуктивная кустистость выше на вариантах с использованием регулятора роста растений Гумата Na (8,8, 8,1). Максимальная урожайность получена на вариантах с Плантафолом и Рексолином 54,8 и 53,7 ц/га, что на 6,8 и 5,7 ц выше показателя на контроле.

¹Автор выражает признательность доценту, д.с.-х.н. Есаулко А.Н. за помощь в подготовке тезисов.

Физиологические эффекты действия УФР на меристемные регенеранты картофеля¹

Ковалева Ольга Александровна²

аспирант

Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси

E-mail: kovalyovy@mail.ru

В природных условиях растения на протяжении всего жизненного цикла подвергаются воздействию различных факторов окружающей среды. Особое значение имеет ультрафиолетовая радиация (УФР) (180-400 нм), входящая в состав электромагнитного излучения Солнца. Согласно прогнозам, грядущие глобальные изменения климата, связанные с истощением озонового слоя, влекут за собой увеличение дозы попадающего на Землю УФ излучения. В связи с этим знание механизмов действия УФР на физиологические процессы у растений, и особенно на сельскохозяйственные культуры, приобретает большое теоретическое и практическое значение. Основная задача нашего исследования - установить физиологические эффекты действия УФР на рост, развитие и биологическую продуктивность картофеля.

Исследования выполнены на меристемных регенерантах картофеля (*Solanum tuberosum* L.) среднеранних сортов Скарб и Явор белорусской селекции, которые выращивали под натриевыми лампами ДНАЗ-400 (фотопериод – 16 часов) на искусственных ионообменных субстратах при комнатной температуре. Источником УФР служила ртутная лампа ДРТ – 1000. Для контроля величины дозы облучения растений использовали УФР – дозиметр ДАУ – 81. Однократная доза (E_1) УФР-облучения регенерантов картофеля составляла 120 Дж/м². Все варианты опыта выполняли в 3-5 кратной повторности.

При УФ облучении наблюдалась стимуляция ростовых процессов, увеличение содержания хлорофилла *a* и *b*, каротиноидов, флавоноидов в листьях меристемных регенерантов. Облучение УФР стимулировало образование и развитие корней, причем укоренение контрольных регенерантов в среднем происходило на седьмые сутки после черенкования, а регенеранты облученные УФР укоренялись на третьи - четвертые сутки. Облученные растения имели более высокий коэффициент размножения (на 25-33%) по сравнению с контролем, что является очень важным показателем для первичного семеноводства картофеля. Содержание сухого вещества в клубнях, полученных из УФ-облученных регенерантов, было достоверно на 11 % выше по сравнению с контролем. Исследования по выявлению влияния УФР на физиологические процессы растений, выращенных в искусственных условиях, позволяют использовать УФР для стимуляции и направленного синтеза органических веществ в растениях, влиять на аттрагирующую способность растений, изменять длительность физиологических фаз их развития. Возможность применения УФР от искусственных источников света в вегетационных сооружениях и контролируемых условиях для выращивания оздоровленного посадочного материала овощных культур позволит увеличить их урожайность и качество.

¹ Тезисы доклада основаны на материалах исследований, проведенных при финансовой поддержке аспирантского гранта Президиума НАН Беларуси 2005-2006 гг. (грант № 22, 36).

² Автор выражает признательность зав. лаб. оптимизации минерального питания и фотосинтеза ИЭБ НАНБ, канд. биол. наук Янчевской Т.Г. за помощь в подготовке тезисов.

Влияние экзогенной гибберелловой кислоты на расщепление белков в прорастающей пшенице

Лебедева Александра Сергеевна

аспирант

Нижегородский государственный университет им. Н.И.Лобачевского, Н.Новгород, Россия

E-mail: alexlebedeva@mail.ru

Скорость гидролиза запасных веществ изменяется в ответ на различные внешние и внутренние факторы.

Нами исследовано влияние экзогенной гибберелловой кислоты ($1 \cdot 10^{-5}$ М) на интенсивность протеолиза в 2, 5 и 7-дневных проростках пшеницы (сорт Московская 35).

В зерновках на фоне экзогенной ГК отмечалось повышение активности аспартильных протеиназ (рН 3.5) на 2 день, в 5-дневных ГК не вызывала достоверного изменения уровня протеолиза, а у 7-дневных снижала.

Что касается цистеиновых протеиназ (рН 5.5), то внесение экзогенной ГК приводило к достоверному снижению их активности во все сроки прорастания, включая ранние – 2 день. Наиболее выраженное ингибирование отмечено у 7-дневных (на 65%).

Проращивание семян на экзогенной ГК не влекло за собой закономерных изменений в уровне протеолиза в побегах. На 5 день наблюдалась тенденция к падению суммарной активности – рН 5.5 (на 32%). Это снижение уровня протеолиза под действием ГК в побегах пшеницы, показанное в опытах с ингибиторами, происходило за счет цистеиновых протеиназ. Их активность в варианте с ГК была ниже на 47.2% по сравнению с контрольным вариантом, в то время как активность других типов протеиназ под влиянием экзогенной ГК несколько возрастала.

Совместное действие ГК и гипертермии приводило к увеличению уровня активности аспартильных протеиназ у 2 и 5-дневных прорастающих зерновок. Для цистеиновых протеиназ в варианте ГК и гипертермия было отмечено еще большее падение активности по сравнению только с тепловым воздействием, особенно на 5 и 7 день. Одновременное влияние двух однонаправлено воздействующих факторов в данном случае приводит к синергическому эффекту.

В побегах совместное действие ГК и гипертермии вызывало различную ответную реакцию: повышение на 2 день и снижение на 5 день; на 7 день отличий не зафиксировано (рН 5.5). При рН 3.5 ГК не приводила к дополнительному снижению активности, напротив, на 7 день отмечено ее возрастание.

Таким образом, нами показана неоднотипность реакций отдельных частей прорастающей пшеницы на ГК и неравноценный вклад различных типов протеиназ в ответ на введение экзогенного фитогормона.

Биохимические особенности формирования разных типов устойчивости ржи против ржавчинной инфекции

Мельникова Елена Владимировна, Корытько Лариса Александровна

Младшие научные сотрудники

Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси

e-mail: MelnikovaE07@mail.ru

Проводилось изучение биохимических особенностей двух широко распространенных в природе типов устойчивости растений: некротического и хлорозного (нехозяинного). Указанные типы устойчивости являются основными защитными реакциями ржи против возбудителей ржавчинной инфекции. Главным средством борьбы против инфекции при некротическом типе устойчивости, формой проявления которого служит сверхчувствительный некроз мезофильных клеток в ответ на внедрение патогена, является антиоксидантная система, в состав которой входят как окисляющие ферменты (пероксидаза, полифенолоксидаза, каталаза, супероксиддисмутаза), так и низкомолекулярные вещества (каротиноиды, аскорбиновая кислота, токоферрол, «стрессовые» аминокислоты и др.). Механизмы нехозяинной устойчивости, не дающей сверхчувствительных некротических пятен на пораженных листьях, изучены достаточно слабо.

В настоящей работе исследованы изменения в содержании свободных аминокислот и в активности пероксидазы в динамике развития хлорозной и некротической защитных реакций. Опыты проводились на растениях ржи (сорт Игуменская), восприимчивой к ржаной ржавчине (*Puccinia dispersa* Erikss. et Henn), но проявляющей хлорозную защитную реакцию при контакте с овсяной ржавчиной (*Puccinia coronifera* Kleb.). Механизмы некротической защитной реакции изучали на устойчивом полудиком виде ржи Державина. Содержание свободных аминокислот определяли с помощью газо-жидкостного хроматографа. Активность пероксидазы изучали усовершенствованным фотокалориметрическим методом А.Н. Бояркина.

Исследователями выделяется группа «стрессовых» аминокислот (аланин, фенилаланин, пролин), принимающих участие в адаптивном ответе растительного организма на стрессоры. Их содержание существенно повышается при различных воздействиях на организм, в том числе и на внедрение патогена. В наших исследованиях количество свободного пролина и аланина, а также лейцина значительно повышалось (на 60-100%) только на первой стадии патогенеза в растениях культурной ржи, инфицированных неспецифической для нее овсяной ржавчиной, а при дальнейшем развитии болезни уровень их резко снижался до контрольного. Это указывает на подавление инфекции на начальном этапе патогенеза. В восприимчивой и устойчивой комбинации (культурная рожь Игуменская и полудикия рожь Державина пораженные *P. dispersa*) наблюдалось постепенное возрастание содержания этих аминокислот, что свидетельствует о развитии патогена в тканях растений. Данные, полученные при изучении роли пероксидазы, показывают, что она также не является основным механизмом в развитии хлорозной реакции, а играет второстепенную (вспомогательную) роль. Так, наши исследования показали, что в стадии формирования защитных некрозов в листьях ржи Державина активность пероксидазы увеличивается на 300-400%, а при несовместимой комбинации в то же самое время – всего лишь на 6-21%. Видимо, хлорозная фитозащита не использует токсинобразующие механизмы (пероксидазное окисление и др.), а развивается по более мягкому, щадящему пути.

Новые регуляторы роста для сахарной свёклы

Назаренко Дарья Юрьевна

Аспирант

Всероссийский НИИ биологической защиты растений, Краснодар, Россия

E-mail: danazarenko@yandex.ru

Отделением защиты растений Россельхозакадемии в системе управления фитосанитарным состоянием агроэкосистем реализуется концепция небιοцидной защиты растений, которая отвечает современным требованиям научного обеспечения аграрного сектора, задачам политики государства, в части биологической и химической безопасности, изложенным в «Основах государственной политики в области обеспечения химической и биологической безопасности Российской Федерации на период до 2010 г. и дальнейшую перспективу» (Захаренко В.А., 2006).

В этом плане основным направлением поиска новых регуляторов роста является скрининг соединений различной химической природы, обладающих двойным эффектом-регуляцией роста и развития растений и повышением их устойчивости к неблагоприятным биотическим и абиотическим факторам.

В соответствии с поставленными задачами нами были синтезированы и испытаны новые вещества из ряда гетероциклических соединений 4-Метил-2-хлор-6- {[1-алкил-2-(нитробензилиден)] гидразино}-никотинонитрилы; 3-[(4-метилфенил) карбоксамидо]-1,4,6-триметил-5-R-пиразоло-[4,5-*b*]пиридины; 3-Амино-4,6-диметил-5-R-2-R¹-тиено[2,3-*b*]пиридины с различными заместителями, в качестве веществ, влияющих на основные физиолого-биологические процессы роста и развития растений сахарной свёклы.

Исследования проводились на экспериментальной базе ВНИИБЗР, опрыскивание посевов сахарной свёклы сорта Дружба-МС 34 проводили дважды в фазу 6-8 листьев и при смыкании в рядках (Краткие методические указания по проведению государственных испытаний регуляторов роста растений .ЦИНАО.Москва-1984.с.20). Результаты опыта показали, что применение данных веществ в низких дозах 28-40г/га, способствовало увеличению урожайности культуры от 4,8 до 7,3 т/га и увеличению сахаристости от 2,2 до 3,7%.

Накопление флавоноидов и аскорбиновой кислоты в каллусной культуре *Scutellaria baicalensis* Georgi.

Песяк Сергей Владимирович, Окладникова Наталия Николаевна

студент

аспирант

Томский государственный университет, Томск, Россия

E-mail: guru13@inbox.ru

Методы культуры клеток растений *in vitro* открыли новые перспективы для изучения путей биогенеза и регуляции метаболизма вторичных веществ. Технология *in vitro* позволяет получать экологически чистое сырьё круглый год, независимо от климатических условий и трудностей сбора сырья, увеличивать выход биологически активных веществ (БАВ) и регулировать их накопление в культуре. Шлемник байкальский (*Scutellaria baicalensis* Georgi) семейства яснотковых (*Lamiaceae*) – одно из древнейших растений традиционной медицины Китая, Монголии, Японии, Кореи и Дальнего Востока. Ареал данного вида сокращается, а в некоторых районах нашей страны это растение включено в региональные Красные книги. Учитывая особенности культивирования *in vitro*, представляло интерес исследование фитохимических особенностей *Scutellaria baicalensis* в каллусной культуре.

С 80-х гг. 20 века проводятся исследования культур клеток и тканей *Scutellaria baicalensis* в условиях *in vitro*. Однако во всех этих исследованиях не были изучены процессы накопления аскорбиновой кислоты, которая вместе с флавоноидами образует сильнейшую антиоксидантную систему, представляющую большой интерес для исследователей. В связи с этим, была поставлена задача изучить зависимость накопления флавоноидов и аскорбиновой кислоты в каллусной культуре *Scutellaria baicalensis* Georgi от содержания в среде фитогормонов.

Эксперименты были выполнены на каллусной культуре ОП2ЛК *Scutellaria baicalensis* 6-го и 8-го пассажей, выращенных на питательных средах с минеральной основой по прописи Мурасиге-Скуга (1962), модифицированных индолилуксусной кислотой (ИУК) и кинетином. По результатам 7-го субкультивирования были отобраны оптимальные составы сред для максимального роста культуры. По результатам 8-ого субкультивирования каллуса измеряли объем клеток, вычисляли индекс роста, определяли содержание аскорбиновой кислоты и флавоноидов.

Проведенное исследование показало, что по всем измеренным параметрам оптимальной средой для культивирования каллусной ткани *Scutellaria baicalensis* оказалась среда с содержанием фитогормонов 1 мг/л ИУК 0,2 мг/л кинетин. Высокие концентрации кинетина действовали угнетающе на рост и продукцию флавоноидов каллуса *Scutellaria baicalensis*.

Литература:

1. Трофимова Н.А. Шлемник байкальский в изолированной культуре тканей // Растительные ресурсы Южной Сибири их рациональное использование и охрана. - Томск: Изд-во. Том. ун-та, 1982. - С. 80-82.
2. Hirofani M., Nagashima S., Yoshikawa T. Baicalin and baicalein productions of cultured *Scutellaria baicalensis* cells // Natural Medicines. - 1998. - Vol. 52, N. 5. - P. 440-443.
3. Kopp J., Wang O.Y., Horch R.E. et al. Ancient traditional Chinese medicine in burn treatment: a historical review // Burns. - 2003. - Vol. 29. - P. 473-478.
4. Yamamoto H. *Scutellaria baicalensis* Georgi: In Vitro Culture and the Production of Flavonoids // Biotechnology in Agriculture and Forestry: Medical and Aromatic Plants III. - 1991 - Vol. 15. - P.398-418.

Метод количественной оценки ИУК по гистохимическому окрашиванию GUS-активности¹

Пожванов Григорий Александрович

студент

Санкт-Петербургский государственный университет, биолого-почвенный факультет,

Санкт-Петербург, Россия

E-mail: pozhvanov@gmail.com

При изучении механизма действия фитогормонов, например ИУК, в ходе ростовых реакций растений возникает необходимость оценки локальных концентраций гормона в ткани. В современных исследованиях биологии растений широко распространены методы работы на объектах, трансформированных генетической конструкцией с использованием репортерного гена. Такие конструкции могут быть чувствительны к фитогормонам (ИУК, ЦК и др.), а в качестве репортерного гена используется бактериальная глюкокуронидаза. Для визуализации экспрессии GUS проводится гистохимическая реакция, дающая характерное синее окрашивание, но до сих пор доступно только качественное определение присутствия гормона.

Целью данной работы была разработка метода количественной оценки ИУК по гистохимическому окрашиванию на GUS-активность. Объектом исследования являлись 7-дневные проростки *Arabidopsis thaliana* L. DR5::GUS. Растения выращивали на агаризованных средах с различной концентрацией ИУК от 10^{-8} до 10^{-5} М.

Гистохимическое окрашивание корней растений производили реактивом X-Glc (5-Bromo-4-chloro-3-indolyl β -D-глюкуроглюкозид). Затем выполняли микрофотосъемку окрашенных образцов и компьютерный анализ цветовой информации цифровых изображений в программах ImageJ и Adobe Photoshop CS2.

Показано, что отклик по каналам цифрового изображения зависит от концентрации ИУК в среде, отклик в канале R достоверно увеличивается с возрастанием концентрации ИУК в среде. По оценке падения яркости видна логарифмическая зависимость от концентрации ИУК в пределах 10^{-7} – 10^{-5} М. Кроме того, падение яркости в канале R достоверно отличается от каналов G и B. Таким образом, анализ цифровых изображений может использоваться для количественной оценки GUS-активности.

Литература

1. Vitha S. Histochemical GUS Analysis / Vitha S., Beneš K., Phillips J.P. and Gartland K.M.A. // *Agrobacterium Protocols*. – Totowa, 1995. – P. 185-193.
2. Зверева С.Д. Репортерные гены для генетической инженерии растений: характеристика и методы тестирования / С.Д. Зверева, Г.А. Романов // *Физиология растений*. – 2000. – Т. 47, № 3. – С. 479-488.
3. <http://www.adobe.com/digitalimag/science.html> // Adobe Photoshop CS2: scientists and health care professionals.

¹ Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 05-04-49619.

Особенности транслокации тяжелых металлов в растения в зависимости от типа экологической стратегии.

Сибгатуллина Мадина Шавкатовна¹

аспирант

Институт экологии природных систем Академии наук Татарстана, Казань, Республика Татарстан

E-mail: sibmad@list.ru

Высшие растения играют одну из главных ролей в процессе биогеохимического круговорота веществ. Современный этап в исследовании проблемы круговорота можно определить как формирование знаний о закономерностях транслокации микроэлементов, и в первую очередь поллютантов, в растения. Исходя из того, что каждому типу адаптивных стратегий свойственны своя интенсивность и направленность метаболизма, следует ожидать типовые особенности в поглощении тяжелых металлов. В связи с этим целью работы является исследование особенностей транслокации Cd, Zn, Cu, Fe и Pb в растения фитоценозов, относящихся к следующим типам адаптивных стратегий (по Раменскому-Грайму): С (конкуренция), CR (сочетание конкурентности и рудеральности), CSR (сочетание первичных стратегий), R (рудералы), S (стресс-толеранты), SR (сочетание стресс-толерантности и рудеральности).

На содержание указанных элементов проанализированы вегетативные и генеративные органы 19 видов растений, собранных с площадок лугового фитоценоза площадью 10 м² на территории с повышенным содержанием Cd, Zn, Pb и пониженным содержанием Cu. Собранный материал растений разделялся на отдельные органы, высушивался, подвергался сухому озолению. Содержание исследованных металлов анализировалось методом атомно-абсорбционной спектрометрии. Общим для всех видов является то, что элементы накапливаются больше в генеративных органах, нежели в вегетативных. На фоне повышенного содержания в почве кадмия, растения перегружаются этим элементом. Для железа ярко выражен корневой барьер. Выявлено, что растения стресс-толерантной стратегии накапливают все указанные элементы в значительно меньшем количестве, чем растения других стратегий. Наибольшее содержание Cd и Zn обнаружено у видов с CSR и R/CR стратегиями, Cu – у видов с R/CR стратегией, Fe – у видов с CR стратегией и Pb – у видов с CSR и CR стратегиями. Виды, в стратегии которых сочетаются рудеральность и конкурентность и виды с более широкой экологической нишей, т.е. более активно осваивающие ресурсы и более способные к воспроизводству, оказались более родственными к исследованным металлам. Эти особенности можно объяснить тем, что виды стресс-толеранты по сравнению с видами, в стратегии которых присутствует рудеральность, характеризуются низкой метаболической активностью. Таким образом, анализ показал, что виды с разными типами адаптивных стратегий, произрастая в одинаковых экотопических условиях, в накоплении металлов имеют свои особенности.

¹ Автор выражает благодарность научному руководителю – профессору, д.б.н. Зяялову А.А. за помощь в подготовке тезисов.

Влияние абсцизовой кислоты на транслокацию нитрата у растений кукурузы

Трепалина Елена Сергеевна

студентка

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

E-mail: iced_helena@rambler.ru

Абсцизовая кислота (АБК) – это гормональный стресс-сигнал, синтезирующийся в естественных условиях при снижении доступности воды. АБК регулирует многие физиологические процессы: газообмен, водный обмен, транспорт питательных веществ.

В 1998 г Робертсом было показано, что АБК, как и водный стресс, не влияют на активность калиевых каналов коры корня, но оба этих воздействия значительно снижают активность калиевых каналов (K_{out}) клеток стели. В отличие от водного стресса, действие АБК увеличивало активность K_{in} каналов стели. Это связывают с тем, что и АБК, и водный стресс изменяют проводимость мембраны клеток корневой стели в сторону снижения транспорта калия в сосуды ксилемы, что может быть необходимо для увеличения содержания калия в корне. На протопластах из корней кукурузы было показано, что АБК снижает проводимость анионных каналов (X-IRAC и X-QUAC), по которым происходит загрузка нитрата и хлорида в ксилему.

Работу проводили с 9-10 дневными растениями кукурузы, выращенными на питательном растворе смеси Прянишникова 0,5 нормы (1,5 мМ NO_3^-). Растения экспонировали на растворе 10^{-6} М АБК 3 ч или 24 ч. После обработки АБК определяли эндогенное содержание нитрата в тканях корней и надземных органов и собирали пасоку в течение 24 ч. В специальном эксперименте у контрольных и обработанных АБК растений пасоку собирали последовательно каждые 2 – 3 ч.

После 24 ч обработки АБК концентрация NO_3^- в суточной пасоке снижается до 33-71% относительно контрольных растений. Эндогенное содержание нитрата в корнях увеличивается, в то время, как содержание нитрата в надземных органах снижается – происходит перераспределение нитрата на уровне целого растения. При сокращении времени экспозиции на растворе АБК до 3 ч эффекты сохраняются.

При сборе пасоки за короткие промежутки времени у контрольных растений концентрация NO_3^- в экссудате снижается во времени. У растений, экспонированных на растворе АБК, концентрация нитрата по отношению к контрольным растениям сначала снижается, а затем начинает возрастать.

Данные, полученные на уровне целого растения, обсуждаются в сравнении с данными для протопластов корней кукурузы.

Литература

1. Gilliam M., Tester M. (2005), The Regulation of Anion Loading to the Maize Root Xylem // Plant Physiology, Vol. 137, pp. 819-828.
2. Hartung W., Sauter A. and Hose E. (2002) Abscisic acid in the xylem: where does it come from, where does it go to? // Journal of Experimental Botany, Vol. 53, No. 366, pp. 27-32.
3. Roberts S. K. and Snowman B. N. (2000) The effects of ABA on channel-mediated K^+ transport across higher plant roots // Journal of Experimental Botany, Vol. 51, No. 350, pp. 1585-1594.

Перспектива использования индолил-3-уксусной кислоты

для повышения засухоустойчивости

Zea mays L., *Hordeum distichon* L., *Triticum durum* Desf, *Phaseolus vulgaris* L.

Третьякова Елена Юрьевна

студент

Донецкий национальный университет, биологический факультет, Донецк, Украина

E-mail: helen_tretyakova@ukr.net

Целью работы было выявление особенностей всхожести, морфо-анатомических признаков растений под влиянием предпосевной обработки семян индолил-3-уксусной кислотой (ИУК), которые могут быть рассмотрены в аспекте повышения их устойчивости к засухе. В лабораторных исследованиях определили оптимальную концентрацию обработки ИУК при 2-х часовой экспозиции для *Phaseolus vulgaris* ($5,7 \times 10^{-7}$ М ИУК), *Triticum durum* ($5,7 \times 10^{-7}$ М ИУК), *Hordeum distichon* ($5,7 \times 10^{-6}$ М ИУК), *Zea mays* ($5,7 \times 10^{-4}$ М ИУК). При обработке оптимальной концентрацией ИУК увеличивалась энергия прорастания семян, всхожесть семян приближалась к 100%, увеличивались морфометрические признаки проростков (длина листа, длина корня). Скорость роста корня была выше по сравнению с контролем. При проведении полевых исследований посев проводили по схеме, построенной по принципу мозаичности. По показателям полевой всхожести (от 70 % до 90 %) не было достоверных отличий между опытными и контрольными группами. Происходило увеличение показателей морфометрических признаков *Zea mays* (высота растения, диаметр стебля в фазу цветения) и элементов продуктивности (длина початка, среднее количество зерновок на 1 початок в фазу восковой спелости) в обеих опытных группах ($5,7 \times 10^{-4}$ М и $1,14 \times 10^{-3}$ М ИУК) по сравнению с контролем. По длине метелки, фертильности цветков (в фазу цветения), массе 1000 семян у кукурузы (в фазу восковой спелости) не было достоверных отличий между контрольными и обеими опытными группами. У *Triticum durum* происходило увеличение показателей морфометрических признаков (высота растения, диаметр стебля в фазу цветения), элементов продуктивности (общая, продуктивная кустистость в фазу выхода в трубку, начала стеблевания, фертильность цветков, масса 1000 семян), морфологических признаков колоса (длина, озерненность колоса) во второй опытной группе ($5,7 \times 10^{-5}$ М ИУК) по сравнению с контролем. У *Hordeum distichon* не было достоверных отличий между контрольными и обеими опытными группами ($5,7 \times 10^{-6}$ М и $5,7 \times 10^{-5}$ М ИУК) по морфометрическим признакам, элементам продуктивности, морфологическим признакам колоса. У *Zea mays* в фазе 3-х листьев под влиянием предпосевной обработки ИУК формировались более ксероморфные признаки по сравнению с контролем. Происходило увеличение количества устьиц на единицу площади, уменьшение линейных размеров устьиц пропорционально увеличению концентрации ИУК. Под влиянием ИУК у *Zea mays* происходило увеличение размеров проводящих пучков, диаметра сосудов ксилемы (протоксилемы) толщины флоэмы, диаметра клетки флоэмы в 1,5 раза (при $5,7 \times 10^{-4}$ и $1,14 \times 10^{-3}$ М ИУК). У растений *Zea mays* с предпосевной обработкой $5,7 \times 10^{-4}$ М и $1,14 \times 10^{-3}$ М растворами ИУК происходило увеличение количества протоксилемных элементов в 1,5 раза по сравнению с контролем. Проводящие больших размеров характеризуются более мощной склеренхимной обкладкой. У растений *Zea mays* с предпосевной обработкой $1,14 \times 10^{-3}$ М раствором ИУК метахсилема находилась на более поздней стадии своего формирования. У *Phaseolus vulgaris* в фазу двух супротивных листьев под влиянием предпосевной обработки $5,7 \times 10^{-5}$ М ИУК происходило уменьшение толщины ксилемы, диаметра сосудов ксилемы, диаметра клетки флоэмы (в 2 раза у корня, в 1,5 у стебля), толщины флоэмы (в 1,3 раза у корня, в 1,5 у стебля). Клетки сердцевинной паренхимы опытного варианта были меньших размеров по сравнению с контролем.

Таким образом, растения, развившиеся из семян, обработанных ИУК оптимальной или немного превышающей ее концентрациями (для полевых условий), характеризуются морфо-анатомическими признаками, которые могут способствовать их приспособлению к действию лимитирующих факторов (в частности к дефициту влаги в почве).

CN⁻-индуцированная клеточная гибель в листьях растений
Васильев Лев Анатольевич, Несов Артем Владимирович, Дзюбинская Елена
Валерьевна

Аспиранты, научный сотрудник

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия
E-mail: v_levik@mail.ru

CN⁻ вызывал разрушение ядер устьичных клеток в изолированном эпидермисе листьев гороха, кукурузы, подсолнечника, фасоли и клеток в листьях водных растений элодеи и валлиснерии. Его действие усиливалось при освещении и подавлялось акцептором электронов N,N,N',N'-тетраметил-*n*-фенилендиамином (ТМФД) и антиоксидантом α -токоферолом. Сходство в действии антиоксиданта α -токоферола и ТМФД, взаимодействующего с фотосинтетической цепью переноса электронов в хлоропластах и дыхательной цепью митохондрий, позволяют предполагать, что CN⁻-индуцированное разрушение ядер в клетках всех исследованных растений происходит через апоптоз, зависимый от активных форм кислорода и регулируемый окислительно-восстановительным состоянием пластохинона хлоропластов. Как и в листьях C₃-растений (гороха) [1], фотосинтетическое выделение O₂ насечками листьев C₄-растений (кукурузы) подавлялось CN⁻, инактивирующим рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазу, и возобновлялось при последующем добавлении акцептора электронов *n*-бензохинона. Опосредованно, через обкладку проводящих пучков, цианид как индуктор программируемой клеточной гибели достигает клетки мезофилла кукурузы, вызывая их программируемую клеточную гибель. Таким образом, программируемая клеточная гибель вызванная CN⁻ сходна у C₃ и C₄-растений.

1. Самуилов В.Д., Киселевский Д.Б., Сеницын С.В., Шестак А.А., Лагунова Е.М., Несов А.В. (2006) *Биохимия*, 71, 481–492.

Адаптация регенерантов малины сорта Аленушка на различных субстратах в условиях *ex vitro*.

Волосевич Наталья Николаевна

младший научный сотрудник

Институт плодоводства, п.Самохваловичи, Беларусь

E-mail: NataVolosevich@yahoo.com

В классическом варианте клонального микроразмножения растений ризогенез в культуре *in vitro* занимает около 6 недель. В наших исследованиях этот этап был исключен, т. е. использовались для адаптации безкорневые экспланты, чтобы определить возможность ризогенеза сразу в условиях *ex vitro*.

Целью исследования было изучить влияние адаптационных субстратов на морфологическое развитие регенерантов малины сорта Аленушка при ризогенезе и адаптации *ex vitro*.

Для адаптации в нестерильных условиях использовались следующие субстраты: 1) смесь торфа торговой марки «Флорабел» и песка в отношении 3:1 (автоклавируется в течение 150 минут при давлении 1,5 атм); 2) перлит; 3) ионообменный субстрат БИОНА-112, 4) смесь перлита и БИОНА-112 в соотношении 2:1.

Проведенное исследование показало высокий уровень адаптации регенерантов на таких субстратах как перлит (84%), БИОНА-112 (80%), смесь БИОНА-112 с перлитом (75%), в то время как на торфо-песчаной смеси этот показатель был равен только 25%. По эффективности укоренения лучше всех себя зарекомендовал субстрат БИОНА-112 ($27,86 \pm 1,31$), тогда как на смешанных субстратах экспланты укоренялись чуть хуже: на торфо-песчаной смеси ($24,07 \pm 6,04$), на биона - перлитной смеси ($22,91 \pm 1,58$). Наименее эффективным субстратом для укоренения эксплантов малины оказался перлит – $11,56 \pm 2,15$. Что касается морфологического развития надземной части эксплантов, было показано, что оптимальным субстратом является БИОНА-112. Регенеранты малины, адаптированные на данном субстрате имели большую длину стебля ($4,1 \pm 0,15$ см) и количество листьев ($8,93 \pm 0,39$ шт), чем регенеранты, адаптированные на биона – перлитной смеси ($3,67 \pm 0,16$ см и $8,27 \pm 0,52$ шт), на торфо-песчаной смеси ($1,89 \pm 0,23$ см и $7,5 \pm 0,38$ шт), перлите ($1,1 \pm 0,07$ см и $6,8 \pm 0,11$ шт). Результаты проведенного исследования показали высокую эффективность использования ионообменного субстрата БИОНА-112 для адаптации регенерантов малины без предварительного укоренения в условиях *in vitro*, что может быть экономически обосновано при клональном микроразмножении малины в промышленных масштабах.

* Показатель «эффективность укоренения» у адаптированных растений высчитывается по формуле: $N_{корней} \times L_{корней} / 10$

где $N_{корней}$ – количество корней на эксплант;

$L_{корней}$ – средняя длина корней (мм).