ПОДСЕКЦИЯ «ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ»

Динамика содержания каротиноидов в семенах *Brassica oleracea* L. под действием температурного стресса

Алексейчук Иван Владимирович (Белоруссия, Минск, antonio.palaza@gmail.com)

Каротиноиды являются антиоксидантами, которые защищают фотосинтетический аппарат растений от воздействия активных форм кислорода, благодаря способности к флуоресценции обеспечивают защиту от ультрафиолетового излучения, а также выполняют мембраностабилизирующую функцию. Однако физиологическая роль каротиноидов в семенах высших растений изучена недостаточно. Предполагают, что каротиноиды могут защищать клеточные мембраны внутренних структур семени от повреждения свободными радикалами и защищать семена от фотодинамического повреждения в период прорастания, когда происходит формирование фотосинтетического аппарата проростков.

Целью исследований являлось изучение содержания каротиноидов в семенах под действием температурного стресса. Объект – семена капусты белокочанной сорта Русиновка. Для создания температурного стресса влагосодержание семян увеличивали с 0,06 до 0,14 г воды/г абс.сух.в-ва, затем герметично запаковывали и инкубировали при 40°C в течение 7 и 10 суток.

Всхожесть семян снижалась соответственно длительности инкубации и составляла 82% через 7 суток инкубации и 12% через 10 суток по сравнению с 99% в контроле.

Анализ состава каротиноидов, проведенный методом ВЭЖХ, позволяет говорить о преобладании в составе каротиноидов семян капусты ксантофилла лютеина. β -каротин хроматографически детектировался в «следовых» количествах. В необработанных семенах содержание каротинов составляло 1,2 мкг/г абс.сух.в-ва, а ксантофиллов – 16,3 мкг/г. Под влиянием температурного стресса содержание каротинов практически не изменялось, а ксантофиллы накапливались. Содержание ксантофиллов увеличивалось в 2,3 и 2,8 раза через 7 и 10 суток инкубации семян при повышенной влажности и температуре воздуха, соответственно.

Таким образом, отмечен эффект накопления ксантофиллов в семенах капусты в ответ на температурный стресс. *Работа проводилась в лаборатории роста и развития растений Института экспериментальной ботаники им. В.Ф.Купревича НАН Беларуси, руководителем которой является академик Ламан Н.А. Выражаю благодарность сотрудникам лаборатории м.н.с. Борискевич О.В. и к.б.н., н.с. Задворной Ю.В.*

Участие цГМФ в трансдукции высокотемпературного стрессового сигнала в проростках *Arabidopsis thaliana*

Бакакина Ю.С., Колеснёва Е.В., Дубовская Л.В. (Белоруссия, Минск, bakakinay@mail.ru)

В настоящее время не вызывает сомнения, что в клетках растений циклический гуанозинмонофосфат (цГМФ) выступает в качестве биологически активной сигнальной молекулы. За последние несколько лет получены свидетельства относительно участия цГМФ в ответах растений на изменение условий окружающей среды. Показано, что содержание цГМФ в арабидопсисе увеличивается при солевом и осмотическом стрессе. Нами ранее было обнаружено, что окислительный стресс, индуцированный пероксидом водорода, вызывает увеличение эндогенного содержания цГМФ в листьях табака. Показано, что цГМФ синтезируется в клетках растений в ответ на действие монооксида азота (NO). Имеются косвенные данные об участии цГМФ совместно с NO в трансдукции сигналов при биотическом стрессе. Тем не менее, вопрос об участии цГМФ в качестве вторичного медиатора в реализации стрессовых сигналов в растениях остается предметом для изучения. В литературе отсутствуют данные о влиянии температурного, в частности, теплового, стресса на метаболизм цГМФ в клетках растений, неизвестен механизм трансдукции цГМФ-опосредованных сигналов при стрессе.

Таким образом, цель работы заключалась в установлении участия цГМФ в трансдукции высокотемпературного стрессового сигнала в растениях.

Впервые показано, что в формировании ответа растительной клетки на действие высокотемпературного стресса, принимает участие гуанилатциклазная сигнальная система, активируемая NO. Обнаружено, что в ткани проростков арабидопсиса в ответ на действие высоких температур происходит значительное быстрое увеличение эндогенного содержания NO и, как следствие, цГМФ. С помощью трансгенных растений арабидопсиса, экспрессирующих Ca^{2+} -чувствительный фотоблок апоэворин в цитозоле клеток, было показано, что высокотемпературное стрессовое воздействие приводит к быстрому и значительному увеличению концентрации свободных ионов Ca^{2+} в цитозоле клеток ($[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$), причем увеличение внутриклеточного содержания цГМФ предшествует росту $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$. Следовательно, действие высокотемпературного стресса на $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$ осуществляется по цГМФ-зависимому сигнальному пути при участии NO. При этом, увеличение содержания цГМФ происходит за счет активации фермента синтеза цГМФ – гуанилатциклазы, а в наработке NO участвует как NOS-подобный фермент, так и нитратредуктаза.

Полученные нами результаты позволяют конкретизировать механизм формирования клеточного ответа растений при действии высокотемпературного стресса. Так, впервые установлен механизм и характер взаимодействия между цГМФ-, NO- и Ca^{2+} -зависимыми сигнальными каскадами при действии высоких температур и показано, что вторичные медиаторы в цепи трансдукции данного стрессового воздействия действуют в следующей сигнальной последовательности: NO, цГМФ и Ca^{2+} .

Работа выполнена при поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований, грант №Б08МС-003. Авторы выражают благодарность научному руководителю, академику НАН Беларуси Вологовскому И.Д. за помощь в планировании работы и обсуждении результатов.

Анализ распределения и накопления никеля в тканях гипераккумулятора *Alyssum obovatum* (С.А. Мей.) Turcz. и исключателя *Alyssum montanum* L. Бакланов Илья Андреевич (Москва, baklanov_ia@list.ru)

Перспективной для восстановления загрязненных территорий является фиторемедиация – комплекс методов биологической очистки с использованием растений гипераккумуляторов, способных, в отличие от исключателей, накапливать тяжелые металлы в побеге. Для объяснения механизмов гипераккумуляции необходим сравнительный анализ накопления и распределения металлов в растениях-гипераккумуляторах и исключателях на разных уровнях организации, что являлось основной задачей работы.

В качестве объектов исследования были выбраны два контрастных вида из рода *Alyssum* L.: *A. obovatum* (С.А. Мей.) Turcz. (гипераккумулятор) и *A. montanum* L. (исключатель). Растения выращивали в водной культуре с добавлением 30 и 300 мкМ нитрата Ni для гипераккумулятора и 30 мкМ нитрата Ni для исключателя. Контролем служили растения, выращенные без добавления Ni. Выявление Ni проводили с помощью диметилглиоксимного метода (Серегин и др., 2003). О присутствии Ni судили по малиново-красному окрашиванию, накопление определяли полуколичественно по интенсивности окрашивания. В контроле окрашивания тканей не наблюдалось.

В апикальной части корня гипераккумулятора Ni присутствовал в корневом чехлике, тогда как в меристеме и вышележащих тканях этой части корня он практически не выявлялся. У исключателя меристема и зона растяжения окрашивались интенсивно, в корневом чехлике Ni не обнаруживался. В средней части корня у обоих видов интенсивность окрашивания тканей была выше по сравнению с апикальной, при этом Ni выявлялся в клетках коры. В отличие от исключателя, у гипераккумулятора Ni был обнаружен в тканях центрального цилиндра. В базальной части корня у обоих видов накопление Ni было существенно меньше по сравнению с другими частями корня, но у гипераккумулятора окрашивание было более интенсивным по сравнению с исключателем.

В стеблях гипераккумулятора Ni накапливался в эпидерме, а также выявлялся в проводящих тканях. Интенсивность окрашивания тканей апикальной части стебля была выше, чем средней и базальной частей. В листьях гипераккумулятора Ni выявлялся

в проводящих тканях и накапливался в клетках эпидермы. Значительное накопление Ni происходило в основаниях и телех трихом, но не в их лучах. У исключателя Ni в тканях листа и стебля не выявлялся.

По сравнению с растениями, выращенными в присутствии низкой концентрации нитрата Ni (30 мкМ), при высокой концентрации (300 мкМ) интенсивность окрашивания тканей корня и побега гипераккумулятора *A. obovatum* была значительно выше, однако характер распределения Ni не изменялся.

Таким образом, нами установлено, что различные ткани корня и побега гипераккумулятора и исключателя из рода *Alyssum* L. играют разную роль в накоплении Ni.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ № 08-04-00031).

Влияние цитокинина на функционирование электрон-транспортной цепи в митохондриях семян люпина (*Lupinus luteus* L.)

Белозерова Н.С., Балашикина Л.В. (Москва, n_belozerova@list.ru)

Дыхание, наряду с фотосинтезом, обеспечивает процессы роста и поддержания структурной биомассы, и осуществляется митохондриями. Эффект подавления дыхания в растениях цитокинином известен уже довольно давно. В 1980-82 году проф. Miller показал, что цитокинин эффективно подавляет цианид-устойчивый (альтернативный) путь дыхания в митохондриях различных растений.

В наших экспериментах на семенах люпина желтого так же наблюдалось снижение активности альтернативного пути (АП) под действием экзогенного цитокинина. При обработке семян 22 мкМ БАП (бензиламинопурина) в течение 12 часов в темноте, активность АП в митохондриях снижалась более чем в 10 раз по отношению к контролю и составляла 0,5-1,5 нмоль O₂/(мин мг белка). При этом БАП не оказывал существенного ингибирующего влияния на скорость окисления с участием основного цитохромного пути (ЦП), а также на параметры окислительного фосфорилирования (величину ДК (дыхательный контроль) и коэффициента АДФ/О). При действии гормона на свету уровень активности АП несколько повышался. Свет может оказывать свое влияние через систему фитохромов. Влияние оказывают также активные формы кислорода, изменение углеводного статуса клетки и фотодыхание, которые связаны с активированным светом фотосинтезом.

Уровень белка альтернативной оксидазы (АОХ) в митохондриях семян определяли с помощью моноклональных антител, любезно предоставленных проф. Элтоном (Университет Небраска, США). После обработки семян цитокинином в темноте уровень белка АОХ в выделенных митохондриях снизился, тогда как при обработке семян гормоном на свету, уровень белка повысился. Полученные результаты согласуются с данными по общей активности АП. Однако следует заметить, что, несмотря на повышенное содержание белка АОХ при одновременном действии цитокинина и света, общая активность АП не превышала активности в контрольном варианте. Это говорит о том, что цитокинин влияет не только на содержание белка-фермента, но и на его активность.

Для изучения возможных путей регуляции гормоном АП и ЦП на транскрипционном уровне и на уровне содержания мРНК выбран ряд митохондриальных генов (*AOX*, *nad3*, *nad6*, *nad9*, *cox1*, *cox3*, *ccmB*, *cob*, *atp9*), кодирующих белки различных комплексов электрон-транспортной цепи.

Влияние импульсного магнитного поля на перекисный гомеостаз зелёных клеток гороха

Васильева Е.А., Яшина Е.С. (Нижегород, katelyn@bk.ru)

В данный момент широко обсуждаются возможные механизмы влияния слабых переменных магнитных полей на биологические объекты и биохимические процессы. Показано воздействие подобных полей на скорость гравитропической реакции через *Ca*-зависимые ферменты и процесса гидролиза ряда белков и пептидов; на набухание семян через усиление активности эстераз (Аксенов и др., 2001; Белова, Леднев, 2001). Более тонкие механизмы воздействия магнитных полей мало изучены. Целью исследования стало

изучение изменения состояния перекисного гомеостаза клеток гороха в ответ на действие импульсного магнитного поля (ИМП).

Объектом исследования служили 2-х недельные растения гороха *Pisum sativum* L., выращенные в лабораторных условиях. Обработке полем подвергались целые растения. ИМП (пачки из 20 импульсов длительностью 227 мкс с амплитудой 1500 мкТл, следующих с частотой 15 Гц) создавали с помощью генератора фирмы Electro-Biology Inc., используемых в ортопедических клиниках. Длительность экспозиции 30, 60 и 120 мин, контролем служили растения, выдержанные в течение экспозиции в условиях нормального геомагнитного поля. Для оценки состояния перекисного гомеостаза хлоропластов определяли содержание продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) – диеновых конъюгатов (ДК) и оснований Шиффа (ОШ), активности аскорбатпероксидазы (АП), содержание аскорбиновой кислоты (АК). Дополнительно проводили определение активности каталазы и глутатионтрансферазы (ГТ).

В ответ на действие ИМП в хлоропластах содержание ДК практически не изменялось, уровень ОШ колебался около контрольного, достоверно уменьшаясь на 10% после 120-минутной экспозиции. Состояние компонентов антиоксидантной системы на протяжении всей обработки было близко к контрольному значению, лишь 60-минутная экспозиция достоверно увеличивала активность АП на 40% и содержание АК на 50%.

Изменение активности каталазы носило двухфазный характер: более короткая 30-минутная экспозиция на 30% увеличивала активность фермента, тогда как более длительные воздействия снижали этот показатель относительно контрольного уровня на 10% (60 мин) и 30% (120 мин). Активность ГТ оставалась без изменения.

Т.о., импульсное магнитное поле вызывало изменение антиоксидантного компонента перекисного гомеостаза как на уровне пластид, так и на уровне клетки. При этом пластиды оказались менее чувствительными к магнитному полю, позже реагируя на воздействие. Длительное воздействие (120-мин) вызывало спад в активности каталазы, в то время, как активность АП и содержание АК в хлоропластах лишь возвращались к контрольному уровню. Отсутствие изменений в уровне продуктов ПОЛ мембран хлоропластов подтверждает меньшую чувствительность пластид к изучаемому воздействию.

«Искусственные семена» как способ получения экологически чистого лекарственного сырья и сохранения исчезающих видов растений **Вдовитченко Мария** (Москва, verlioka@gmail.com)

Основное внимание исследователей, работающих с растительными культурами *in vitro* при получении так называемых «искусственных семян» (ИС), уделяется изучению создания соматических эмбрионов, получаемых из пазушных и верхушечных стеблевых почек наземных частей растений. До последнего времени существовали лишь единичные данные японских исследователей по получению ИС из корневых сегментов.

В настоящей работе было изучено влияние инкапсулирования в гелевую оболочку и иммобилизации сегментов изолированно растущих рRi T-ДНК трансформированных корней лекарственного растения шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis* Georgi) на морфологические, анатомические, физиологические и биохимические особенности возобновляемых из ИС корневых культур. Ценность выбранного растения определялась широким спектром фармакологической активности флавонов, образующихся в его корнях, и острым недостатком лекарственного сырья для производства эффективно действующих препаратов.

ИС получали инкапсуляцией фрагментов стерильных корней в полисахаридный гель (альгинат) с мембранной оболочкой, предотвращающей испарение воды. Такие семена сохраняли жизнеспособность после длительного хранения их при температуре +4°C. При переносе ИС на питательную среду в условиях +26°C активизировались корневые меристемы инкапсулированных фрагментов, что на 3–4-й день приводило к прорастанию корней через альгинатную оболочку и образованию хорошо растущей массы ветвящихся корней. Ростовая активность и масса обновлённой корневой культуры, полученной из ИС, в течение одного пассажа почти в 2 раза превышала массу исходной культуры корней того

же возраста. При этом общее содержание флавонов в пересчете на 1 г сухой корневой массы сохранялось примерно на том же уровне. С помощью ИС было успешно проведено оздоровление растительного материала шлемника, проявлявшего иногда положительную реакцию при тестировании на контаминацию. Для этого апикальные корневые сегменты заключали в альгинатную оболочку, содержащую антибиотик.

При изучении морфологических и анатомических особенностей корневых культур, возобновлённых из ИС, было отмечено интенсивное формирование хлоропластов в клетках корней, культивируемых в условиях освещения. Определено общее количество хлорофилла и соотношение хлорофиллов *a* и *b*, а так же содержание флавонов в зелёных корнях. Обнаруженные физиологические изменения при определённых условиях могут стать предпосылками к регенерации целого растения шлемника, размножающегося исключительно семенами, что может обеспечить разработку микрклонального способа получения целых растений и способствовать сохранению естественных ресурсов исчезающего лекарственного растения. Применение ИС может стать также необходимым этапом в технологическом процессе планируемого промышленного выращивания корней шлемника, облегчающим транспортировку и подготовку стерильных маточных эксплантов, помещаемых в биореактор.

АТФазы плазматической мембраны

галолерантной микроводоросли *Dunaliella maritima*: кинетические характеристики

Генатулина Айла Рахимбердиевна (Москва, ailagr@rambler.ru)

Морская одноклеточная водоросль *Dunaliella maritima* (класс Prasinophyceae) способна существовать при значительных колебаниях солёности окружающей среды (от 0,05 NaCl до 3 M NaCl) и представляет собой удобный модельный объект для исследования механизмов Na^+ -гомеостатирования цитозоля (Oren, 2005). *D. maritima* не имеет центральной вакуоли и за поддержание оптимальных внутриклеточных концентраций Na^+ у нее отвечают ион-транспортные системы плазматической мембраны (ПМ). Основная роль здесь, по-видимому, принадлежит Na^+ -транспортующей АТФазе, которая сравнительно недавно была обнаружена у этой водоросли (Porova et al., 2005). Показано, что наряду с Na^+ -АТФазой, в ПМ *D. maritima* функционируют и другие транспортные системы, вовлеченные в поддержание ионного гомеостаза: H^+ -АТФаза и Na^+/H^+ -антипортер (Попова и др.).

В настоящей работе исследовали транспортные активности Na^+ -АТФазы и H^+ -АТФазы ПМ *D. maritima*. Эксперименты проводили на инвертированных везикулах ПМ, выделенных из клеток водоросли. Активность H^+ -АТФазы определяли по АТФ-индуцируемому закислению везикулярного люмена, которое регистрировали с помощью ΔpH -чувствительного оптического зонда акридинового оранжевого. Активность Na^+ -АТФазы определяли по АТФ и Na^+ -зависимой генерации электрического потенциала ($\Delta\psi$) на везикулярной мембране; регистрацию $\Delta\psi$ осуществляли с использованием $\Delta\psi$ -чувствительного зонда оксонола VI.

Установлено, что обе АТФазы работают в широком диапазоне pH. Максимальная активность H^+ -АТФазы наблюдалась при pH 6,5-7,0, Na^+ -АТФазы – при pH 7,5-8,0. Обе АТФазы *D. maritima* относятся к классу АТФаз Р-типа и требуют для своей работы наличия ионов Mg^{2+} , в связи с чем исследовали зависимость активности ферментов от концентраций Mg^{2+} и АТФ. Исследовали также зависимость активности Na^+ -АТФазы от концентраций Na^+ . Полученные зависимости не подчиняются простой кинетике Михаэлиса-Ментен и характерны для аллостерических ферментов (Курганов, 1978).

Наблюдаемые отклонения кинетик Na^+ -АТФазы и H^+ -АТФазы от кинетики Михаэлиса-Ментен позволяют предположить, что: (1) исследуемые АТФазы функционируют в мембране в олигомерных формах (димеры, тетрамеры), либо (2) существует несколько изоформ исследуемых ферментов.

Благодарю своих научных руководителей Попову Ларису Геннадьевну и Балнокина Юрия Владимировича за сотрудничество и полученный от них бесценный исследовательский опыт.

Фенотипические изменения у пшеницы (*Triticum aestivum* L., сорт Инна)

в связи с условиями азотного снабжения

Глазунова Марина Андреевна (Москва, marinaglazunova@mail.ru)

Условия азотного снабжения являются важным фактором для роста и развития растений. Азот может поступать в растение в форме нитрата (NO_3^-) и аммония (NH_4^+), что обуславливает разную стратегию его ассимиляции в клетке и ведет к адаптивным перестройкам на уровне целого растения.

Исследовалось влияние условий азотного питания на рост и развитие растений пшеницы (*Triticum aestivum* L., сорт Инна). Растения выращивали на питательной среде, содержащей нитрат 3 мМ (NO_3^- вариант), аммоний 3 мМ (NH_4^+ вариант), или не содержащей азот ($-N$ вариант), при температуре – день/ночь 22/18°C, освещенности 110 мкМ м⁻² с⁻¹, фотопериоде 16 ч. В корнях и втором листе 21-дневных проростков изучалась активность ростовых процессов, уровень фотосинтеза (в листе), дыхания, уровень активности некоторых ферментов-антиоксидантов, накопление МДА (малонового диальдегида). Также оценивалась устойчивость проростков к стрессу, в качестве стрессора использовался Zn (5мМ $ZnSO_4$ на семь суток).

Показано, что условия азотного снабжения, вызывают различия, проявляющиеся на всех уровнях структурно-функциональной организации растений. В зависимости от условий азотного питания у $-N$ растений уменьшалось содержание восстановленного азота, а у растений NH_4^+ варианта увеличивалось содержание хлорофилла и особенно белка по сравнению с вариантом, растущим на нитрате. Уровень фотосинтетической активности 2-го листа сохранялся одинаковым у растений всех вариантов. При сохранении почти одинакового для всех вариантов уровня дыхания, менялся вклад альтернативного дыхания в общее дыхание. Уровень альтернативного дыхания был выше в корнях и втором листе растений $-N$ и NH_4^+ вариантов. Уровень активности ферментов-антиоксидантов зависел от условия азотного снабжения. Активность СОД (супероксид-дисмутазы) наименьшей была в листе и корнях NH_4^+ варианта, наибольшей у $-N$ варианта. Активность глутатионредуктазы наименьшей была в корнях и листе $-N$ варианта, наибольшей у листа NO_3^- варианта и корней NH_4^+ варианта. Наименьшая активность гваяколпероксидазы наблюдалась в листе и корнях NO_3^- варианта, наибольшая в листе у $-N$ варианта и в корнях NH_4^+ варианта. Активность каталазы в листе наибольшей была у NO_3^- варианта, наименьшей – у $-N$ варианта; в корнях: наибольшая – у $-N$ варианта, наименьшая у NH_4^+ варианта.

В результате воздействия избытка Zn растения всех вариантов испытывали стресс. Одним из признаков стресса является накопление МДА. В наибольшей степени оно увеличивалось у растений $-N$ варианта, в наименьшей у NH_4^+ варианта, при том, что наибольшее количество МДА исходно было у растений NH_4^+ варианта.

Таким образом, исследования показали, что на рост, развитие растений, а также активность антиоксидантной защиты влияет не только наличие азота в среде, но и форма, в которой он поглощается растением.

Изменение устойчивости к фитопатогенам у трансгенных растений табака с геном *hmg1*

Ермошин Александр Анатольевич (Екатеринбург, ermosh@el.ru)

Ген *hmg1* отвечает за синтез в клетках растений мевалоновой кислоты, с которой начинается ацетатно-мевалонатный путь синтеза изопrenoидов. На данном метаболическом пути синтезируются такие важные для растения вещества, как фитогормоны (цитокнины и брассиностероиды), фитоалексины, фитонциды, фитостерины. Изменения в синтезе этих веществ могут влиять на развитие устойчивости растений к фитопатогенам и фитофагам.

Ранее в лаборатории биотехнологии растений ФИБХ (г. Пушино) получены трансгенные растения табака, экспрессирующие ген *hmg1* из *Arabidopsis thaliana* в прямой и обратной ориентациях относительно вирусного промотора CaMV 35S. Опыты проводили на листовых дисках этих растений, выращенных на станции искусственного климата «Биотрон». Экспланты листьев заражали бактериальными и грибным патогенами с широким спектром хозяев – *Erwinia carotovora*, *Pseudomonas syringae* и *Sclerotinia sclerotiorum*. Степень

поражённости дисков оценивали визуально по появлению некротических пятен и хлорозу, снижению содержания фотосинтетических пигментов и возрастанию уровня перекисного окисления липидов. Выявлено повышение устойчивости эксплантов растений со смысловой копией гена *hmg1* ко всем использованным фитопатогенам. У эксплантов растений с антисмысловой копией *hmg1* обнаружено возрастание чувствительности к этим патогенам по сравнению с эксплантатами контрольных растений. В биотесте на антибактериальную активность экстракты всех трансгенных растений не оказывали ингибирующего действия на рост клеток *E. carotovora* и *Ps. syringae*. Таким образом, не выявлено связи полученной устойчивости у «смысловых» растений с накоплением в них фитонцидов.

Устойчивость к патогенам часто бывает связана с изменениями в анатомии листа. Микроскопия срезов листа показала, что толщина верхнего и нижнего эпидермиса не отличалась между вариантами. Упаковка клеток в листе растений со смысловой копией гена *hmg1* была более рыхлая. Обнаруженные изменения в анатомическом строении листьев не объясняют устойчивости к фитопатогенам в «смысловых» растениях и восприимчивости – в «антисмысловых».

Ранее нами показано увеличение количества хлорофиллов на 12–16% в листьях растений со смысловой копией гена *hmg1* по сравнению с контролем, что указывало на возрастание в них уровня цитокининов. Снижение фертильности у трансгенных растений с антисмысловой копией гена *hmg1* вероятнее всего вызвано уменьшением количества brassinosterоидов. Предполагается, что изменение устойчивости трансгенных растений табака к исследуемым патогенам также может быть связано с количеством brassinosterоидов, участвующих в формировании иммунитета растений, и цитокининов, замедляющих старение листа. Для подтверждения данной гипотезы проводится определение количества фитогормонов в исследуемых линиях растений. *Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 09-04-00980) и ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России», ГК № П2364. Автор выражает искреннюю благодарность за помощь в проведении работы и написании тезисов своим руководителям – к.б.н., н.с. Алексеевой В.В. и д.б.н., с.н.с. Руквацовой Е.Б. (лаборатория биотехнологии растений, ФИБХ, г. Пуццо).*

**Молекулярно-биохимические основы создания
экологически безопасных средств защиты растений**
Заикина Евгения Александровна (Уфа, yarullina@bk.ru)

Познание молекулярных механизмов формирования защитных реакций растений, индуцируемых соединениями различной природы, открывает перспективы для создания экологически безопасных иммуностимуляторов нового поколения. Процесс распознавания патогенов в растениях осуществляется с помощью сигнальных систем, которые определяют реакцию клеток на различные химические и физические воздействия. Число веществ, выполняющих функции медиаторов сигнальных систем, постоянно возрастает. Такую роль могут выполнять жасмоновая (ЖК) и салициловая (СК) кислоты, окись азота, перекись водорода и некоторые другие соединения. Эффективными элиситорами защитных реакций растений являются многие природные олигосахариды, в первую очередь структурные компоненты клеточных стенок грибов (гликан, хитин, хитозан) и растений (олигогалактоуриды). Элиситорные свойства хитина проявляются в усилении синтеза фитоалексинов, в повышении активности хитиназы, β-глюканазы, ФАЛ, ингибиторов протеназ, пероксидазы. С использованием ДНК-чипов у *Arabidopsis thaliana* выявлено до 60 генов, реагирующих на добавление хитоолигосахаридов (ХОС). Среди них быстрой (10-30 мин) и высокой экспрессией характеризовались гены, ответственные за синтез регуляторных белков, участвующих в транскрипции и передаче информации.

В данной работе анализировали воздействие сигнальных молекул и элиситоров (СК, ЖК и ХОС) на защитный потенциал пшеницы *T. aestivum* L. при инфицировании возбудителем септориоза *Septoria nodorum* Berk. У части 7-суточных проростков пшеницы срезали листья и помещали их во влажную камеру на фильтровальную бумагу, смоченную в растворе бензимидазола (40 мг/л). Отрезки листьев инокулировали суспензией пикноспор *S. nodorum*

из расчета 106 спор/мл. ХОС, СК и ЖК в соответствующих концентрациях (1мг/л, 0.05мМ и 10⁻⁷М) использовали для замачивания семян пшеницы. Через 24, 48, 72 ч после инфицирования провели анализ процессов продукции перекиси водорода, супероксидного радикала, активности оксалактоксидазы, пероксидазы, уровня экспрессии гена анионной пероксидазы в растениях.

Проведенное исследование показало, что предобработка растений пшеницы ХОС, СК и ЖК снижает степень роста и развития возбудителя септориоза в растительных тканях, усиливает продукцию активных форм кислорода, оказывает модулирующее действие на активность оксидоредуктаз, индуцирует экспрессию гена анионной пероксидазы. Способность различных соединений стимулировать образование H₂O₂ в растительных тканях может быть использована для быстрого и эффективного скрининга экологически безопасных средств защиты растений. Транскрипционную активность гена анионной пероксидазы предлагается использовать в качестве чувствительного теста на устойчивость пшеницы к фитопатогенам.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке АБЦП «Развитие научного потенциала высшей школы» №2.1.1./5676. Благодарю своего научного руководителя д.б.н. Любовь Георгиевну Яруллину за помощь и поддержку на всех этапах работы.

Скоординированные ответы генов двух групп высокомолекулярных хелаторов на избыток меди в растениях рапса

Иванова Елена Михайловна (Москва, ilma25@mail.ru)

Обязательным звеном детоксикации поступающих в клетку тяжелых металлов (ТМ) является их хелатирование, важную роль в этом процессе играют высокомолекулярные лиганды – фитохелатины (PCs) и металлотионеины (MTs). PCs – это цистеин обогатенные полипептиды, ферментативно синтезируемые из глутатиона с помощью фитохелатинсинтазы (PCs). MTs – небольшие цистеин богатые белки, кодируемые обширным семейством генов. К настоящему времени данные об участии этих двух групп лигандов в детоксикации ТМ весьма противоречивы, сильно различающиеся как для разных видов растений, так и для отдельных ТМ.

В корнях и листьях растений рапса (*Brassica napus* L.), росших на среде с 50 и 150 мкМ CuSO₄ (контроль – 0,25 мкМ), изучали экспрессию генов фитохелатинсинтазы *BnPCS* и двух генов металлотионеинов *BnMT1* и *BnMT2*. Содержание мРНК оценивали с помощью ОТ-ПЦР, используя в качестве внутреннего стандарта ген *18SrRNA*, к достоверным различиям относили не менее чем двукратные изменения.

Концентрация меди в корнях превысила уровень контрольных растений более чем в 2 раза уже через 3 и 6 ч на среде с 150 мкМ или 50 мкМ CuSO₄, соответственно, достигая в ходе 10 дней опыта 6-8-кратного уровня. Достоверное увеличение содержания мРНК *BnMT1* наблюдалось уже через 3 ч, а на 7-10 сутки содержание транскриптов этого гена в 5-7 раз превышало уровень контроля. Органоспецифичность и функциональная значимость *BnMT1* при воздействии избытка меди была подтверждена отсутствием его экспрессии в листьях, а также значительно более низким содержанием транскриптов гена *BnMT2* в клетках корней.

На начальных этапах роста растений рапса на среде с избытком меди аккумуляция её в листьях происходила медленнее, чем в корнях, но уже к 6 ч концентрация меди в листьях достоверно превосходила уровень растений контрольного варианта. Напротив, увеличение содержания транскриптов *BnMT2* наблюдалось лишь после 24 ч, а максимальное (2,8-кратное) превышение над контролем было достигнуто в листьях на 5 сутки. Однако, уже в течение первых часов, в условиях отсутствия экспрессии *BnMT1* и лишь небольшого увеличения содержания мРНК *BnMT2*, было установлено увеличение транскриптов гена *BnPCS*, содержание которых к 24 ч превысило в 5-7 раз уровень контроля.

Полученные данные позволяют предполагать, что в детоксикации избытка меди в растениях рапса принимают участие обе группы высокомолекулярных хелаторов – как металлотионеины, так и фитохелатины. Скоординированность экспрессии генов *BnMT1* и *BnMT2* и гена *BnPCS* проявилась в увеличении мРНК *BnPCS* на ранней фазе воздействия

меди, тогда как содержание транскриптов генов *VnMT1* и *VnMT2* достоверно увеличивалось на последующих этапах адаптации растений рапса к избытку меди в среде.

**Экстраклеточные пероксидазы *Triticum aestivum*:
роль в метаболизме АФК при абиотическом стрессе**

Ишемгулова Айгуль Валерьевна (Казань, aishemgulova@mail.ru)

Активные формы кислорода (АФК) образуются в клетках растений и животных как в нормальных условиях, так и при стрессе. В метаболизме АФК принимает участие целый ряд редокс-ферментов, в том числе пероксидазы. В растениях пероксидазы способны не только детоксицировать перекись водорода, но и образовывать АФК при стресс-индуцированном окислительном взрыве, что говорит о многообразной регуляторной роли этих ферментов в поддержании клеточного гомеостаза.

Целью настоящего исследования явилось изучение активности пероксидаз, связанных разными типами связей с клеточной стенкой, а также характеристика генов пероксидаз в корнях пшеницы. Спектр изоформ растительных пероксидаз очень широк: в геноме арабидопсиса обнаружено 73 гена, а в геноме риса 138 генов. В геноме пшеницы точное количество генов пероксидаз до настоящего времени не определено. Пероксидазы клеточной стенки относятся к третьему классу пероксидаз (секреторные пероксидазы) и имеют N-терминальную сигнальную последовательность.

Обнаружено, что ионно-связанные пероксидазы корней обладают супероксид-синтазной активностью, наряду со способностью детоксицировать перекись водорода. Экстраклеточная пероксидаза с молекулярной массой 37 кДа, активность которой стимулировалась при раневом стрессе корней более, чем в тридцать раз, была очищена и частично секвенирована (Minibayeva et al., 2009). Биоинформатический анализ белков экстраклеточных пероксидаз с использованием базы данных NCBI выявил наличие 9 белков с полной и 21 белка с частичной гомологией к секвенированному участку белка. Соответствующие гены пероксидаз содержат по 2 или 3 интрона, которые расположены строго консервативно внутри гена, но не имеют гомологии в нуклеотидных последовательностях. Наряду с традиционными интронами (GT/AG), изучаемые гены содержат нетрадиционные (GC/AG и GA/AG) интроны. Известно, что интрон GC/AG может подвергаться сплайсингу (Vaga et al., 1995), однако по интрону GA/AG таких данных нет. Мы предполагаем, что подобная модификация гена может привести к нарушению процессинга и в результате к потере способности клеток синтезировать функционально-активный белок.

Высокая реактивность экстраклеточных пероксидаз и многообразие их генов являются ключевыми факторами регуляции редокс-ответа растительных клеток на стрессовые воздействия. *Работа поддержана грантом РФФИ № 09-04-01394.*

**Возможности неструктивного анализа пигментов растений
с использованием портативного оптоволоконного рефлектометра**

Кизеев Алексей Николаевич (Апатиты, ank1999@yandex.ru)

Пигментный аппарат растений является чувствительным индикатором их физиологического состояния. В большинстве физиолого-биохимических исследований содержание пигментов в растениях определяют в экстрактах с помощью спектрофотометрического анализа. В последнее время весьма привлекательным является возможность неструктивного анализа пигментов по спектрам отражения интактных тканей. Группой ученых под руководством д.б.н., проф. М.Н. Мерзляка при участии зарубежных коллег была разработана общая методология анализа пигментов растений с использованием метода спектроскопии отражения. Основной задачей данной работы являлся поиск подходов к использованию этой методологии, с использованием портативного оптоволоконного рефлектометра.

Объектами исследований послужили листья растений березы (*Betula verrucosa*), кизильника (*Cotoneaster alauica*), а также хвоя голубой ели (*Picea pungens*). Образцы (общее число более 500) отбирались в течение осеннего периода 2009 г. с деревьев, растущих вблизи биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова. В работе использовали портативный оптоволоконный рефлектометр модульной конструкции,

включающий источник света LS-1 (OceanOptics, США) с галогенной лампой накаливания, спектрорадиометр USB2000 (монохроматор № 3, OceanOptics, США), оптоволоконный зонд на основе разветвленного световода (OceanOptics, США) и держатель образцов собственного изготовления, обеспечивающий падение измеряющего луча на образец под углом 45° либо 90°, а также программное обеспечение OOVBase32 (OceanOptics, США). Для каждого из образцов записывали спектр отражения в видимой области (400–700 нм) против стандарта из BaSO₄ с использованием рефлектометра вышеописанной конструкции, после чего аналитически определяли содержание хлорофиллов, каротиноидов и (в случае кизильника) антоцианов.

В результате проведенной работы был получен массив данных, содержащих информацию о вариации коэффициентов отражения в видимой области спектра и пигментного состава листьев или хвои изученных видов растений. Области спектра с максимальной чувствительностью коэффициентов отражения к содержанию хлорофиллов были найдены в дальней красной и ближней инфракрасной (700–720 нм), а также в зеленой (550–570 нм) областях. Поглощение антоцианов (плечо или полосы около 550–600 нм) обычно проявлялись на фоне значительного поглощения хлорофиллов и каротиноидов. Отмечено, что в красных листьях кизильника при минимальных значениях хлорофиллов, антоцианы накапливались в большом количестве, и практически полностью определяли низкое отражение в зеленой части спектров. Указанный метод удобен для экспресс-анализа содержания пигментов в полевых условиях. Были адаптированы спектральные индексы ChIRI (для оценки содержания хлорофиллов), ARI (для оценки содержания антоцианов), BRI (степень развития побурения при повреждении), PSRI (соотношение каротиноидов и хлорофиллов) для использования с портативным оптоволоконным рефлектометром при полевых измерениях. *Тезисы доклада основаны на материалах исследований, проведенных в рамках гранта Российского фонда фундаментальных исследований «Мобильность молодых ученых» 2009 г. (№ 09-04-90753). Автор выражает глубокую признательность старшему научному сотруднику кафедры биотехнологии биологического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова, д.б.н. А.Е. Соловченко за помощь в проведении экспериментов и обсуждении полученных результатов.*

Роль эндогенной АБК в индуцируемой салициловой кислотой экспрессии *TADHN* гена дегидрина пшеницы при засолении
Ключникова Екатерина Олеговна (Уфа, shakirova@anrb.ru)

Дегидрины принадлежат к LEA-белкам (Late Embryogenesis Abundant) – белкам позднего эмбриогенеза, накапливаемых в ходе нормального онтогенеза в зародышах семян при их обезвоживании. Индукция синтеза LEA белков, в том числе и дегидринов, наблюдается и в тканях вегетирующих растений при разнообразных вызывающих нарушение водного режима клетки стрессовых воздействиях, таких как засуха, засоление, гипотермия, что может свидетельствовать о вовлечении дегидринов в формирование защитных механизмов к перечисленным выше стрессовым факторам, в частности и к засолению. Ранее нами была выявлена чувствительность АБК-индуцируемого *TADHN* гена дегидрина пшеницы к засолению. Известно, что важная роль в предотвращении негативного действия засоления принадлежит салициловой кислоте (СК). В то же время, ключевая роль в переключении жизненных программ на стрессовые принадлежит абсцизовой кислоте (АБК). В связи с этим целью нашей работы заключалась в исследовании роли эндогенной АБК в индуцируемой натрий хлоридным засолением и СК экспрессии *TADHN* гена дегидрина в растениях пшеницы. Экспрессионную активность гена дегидрина анализировали методом ОТ ПЦР. В результате проведенных экспериментов была выявлена чувствительность *TADHN* гена дегидрина пшеницы и к засолению и к СК. Однако в подвергнутых действию хлорида натрия проростках пшеницы, уровень экспрессии исследуемого гена был намного выше по сравнению с обработанными СК. Обращает на себя внимание тот факт, что при одновременной обработке проростков СК и хлоридом натрия мы наблюдали взаимное усиление их действия, так как в этом случае уровень накопления транскриптов *TADHN* гена дегидрина существенно превышал сумму эффектов салициловой кислоты и засоления.

Предобработка проростков пшеницы эффективным ингибитором синтеза АБК флуридоном полностью ингибировала СК-индуцируемое накопление транскриптов гена дегидрина и заметно снижала вызванное одновременной обработкой 2%-м NaCl и СК усиление его экспрессии. Полученные данные указывают на ключевую роль эндогенной АБК в регуляции СК-индуцируемой экспрессии *TADHN* гена дегидрина в растениях пшеницы в условиях засоления. *Работа проведена в рамках программы гранта президента РФ для финансовой поддержки ведущих научных школ (НШ-915.2008.4).*

Ионообменная способность изолированных клеточных стенок по ионам никеля

Комарынец Ольга Владимировна (Москва, Barquillo@ya.ru)

В настоящее время уровень загрязнения окружающей среды, в том числе и тяжёлыми металлами (ТМ), возрастает с каждым годом, и поэтому решение многих экологических вопросов становится не только актуально, но и необходимо для сохранения жизни на Земле. Известно, что растения не только поглощают, но и накапливают ионы металлов в тканях даже при относительно низком их содержании в почве. Именно это свойство позволяет с высокой степенью эффективности использовать растения для удаления из почвы и воды тяжелых металлов и радионуклидов. Многие ученые отмечают, что растительная клеточная стенка является компартментом, который с высокой эффективностью защищает клетку от воздействия повышенных концентраций ионов металлов в наружной среде, однако количественных данных, характеризующих адсорбционную способность клеточной стенки по ионам токсичных металлов, до настоящей работы получено не было. Цель работы состояла в количественной оценке ионообменной способности клеточных стенок по ионам никеля (SNi), изолированных из тканей растений разных видов.

Объектами исследования служили растения пшеницы, маша, нута, вики, выращенные на питательной среде Прянишникова; сведы и шпината, выращенные на питательном растворе Робинсона. Определение SNi проводили из водных растворов с концентрацией ионов никеля 10^{-3} мМ. Величину SNi оценивали по изменению концентрации ионов в растворе после контакта с клеточной стенкой, и по элюированию иона из клеточной стенки раствором 0,1 М HCl. Показана возможность использования для определения SNi обоих методов.

Установлено, что способность клеточных стенок к адсорбции Ni^{+2} из водных растворов значительно зависит от вида растения и изменяется от 50 до 150 мкмоль никеля (от 3500 до 9000 мкг никеля) на 1 г сухой массы стенки. Показано, что способность клеточных стенок к адсорбции Ni^{+2} изменяется в ряду: злаковые $\leq$ маревые $\leq$ бобовые. Можно полагать, что указанная последовательность обусловлена присутствием в клеточных стенках пектиновых полимеров, содержащих неэтерифицированные карбоксильные группы полигалактуроновой кислоты (ПГК). Наши результаты показывают, что SNi и количество карбоксильных групп ПГК являются взаимозависимыми параметрами (коэффициент корреляции, равен 0,8). Таким образом, можно утверждать, что способность растительной клеточной стенки к адсорбции ионов никеля обусловлена наличием в ее полимерном матриксе карбоксильных групп ПГК. На основании проведенного исследования можно заключить, что клеточная стенка является компартментом, который в определенных условиях с высокой эффективностью защищает клетку от воздействия повышенных концентраций ионов никеля в среде. *Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 08-04-01398-а).*

Влияние меди на актиновый цитоскелет и жизнеспособность клеток корней сои

Кузнецова Надежда Александровна (Москва, qwer1131@ya.ru)

Медь является одним из незаменимых элементов, необходимых для живых организмов, однако оказывает сильное повреждающее действие, если ее концентрации превышают оптимальные. В данной работе изучались эффекты, вызываемые в клетках корней сои избытком меди.

В опыте использовали 2-х недельные растения сои (*Glycine max*, сорт Доринца), выращенные в водной культуре. Гистохимическим методом с использованием реактива Шиффа для определения малонового диальдегида, который является конечным продуктом распада липидов, было показано, что медь вызывает перекисное окисление липидов клеток

корней сои, при этом скорость образования диальдегида зависит от времени и концентрации ионов меди в среде. Нарушение целостности мембран клеток корня и потерю его жизнеспособности определяли, окрашивая препараты красителем Эванс синий, который используется как индикатор гибели клеток, поскольку он не способен проникать в живые клетки. Потеря жизнеспособности клеток корней сои наступала после 1-2 часов и зависела от концентрации меди: при концентрации 150 мкМ CuSO_4 происходило явное окрашивание кончика корня (0-15мм), что свидетельствовало о гибели части клеток этой зоны. Показано, что при концентрации CuSO_4 10 мкМ и времени контакта 2 часа число жизнеспособных клеток кончика корня уменьшается на 10-15%, а при концентрации 50 и 150 мкМ CuSO_4 – в два и пять раз соответственно.

Важную роль в адаптации растительных клеток к экстремальным условиям окружающей среды могут играть перестройки актинового цитоскелета. Нами было показано, что 3-6 часовое пребывание растений на среде, содержащей относительно небольшой избыток меди (10 или 25 мкМ CuSO_4), вызывало значительное увеличение количества актина в составе цитоскелетной сети, выделенной из гомогенатов корней (осадок 13000г) и во фракции полимерного актина (осадок 100 000г). Увеличение количества актина и степени его полимеризации может свидетельствовать об увеличении интенсивности адаптационных процессов, сопряженных с работой актинового цитоскелета.

Регуляция морфогенеза трансгенных проростков *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh селективным светом

Лапухина О.В., Литвиненко И.В., Ефимова М.В. (Томск, lilac_31@yandex.ru)

Современные технологии геномной инженерии с использованием метода агробактериальной трансформации позволяют переносить в растения гены из чужеродного организма. При этом встраивание генов происходит в случайные сайты ядерного генома, и растения приобретают не только полезные признаки, но и возможные нарушения физиологии развития. С другой стороны, развитие растений регулируется внешними факторами. Например, одна из основных программ развития растений – фотоморфогенез, находится под контролем ключевого фактора внешней среды – света разного спектрального состава.

Исследования проводили на трансгенных растениях *A. thaliana* с чужеродным геном *gusA* под контролем промотора гена первичного ответа на цитокинин (*ARR5*) и родительской линии экотипа Wassilewskija (Was). Трансформированные растения отличались друг от друга степенью экспрессии конструкции *ARR5::GUS* – *ARR5low* и *ARR5high* – низкая и высокая степень экспрессии, соответственно. Несмотря на то, что промотор взят от цитокинин-зависимого гена *ARR5*, он не оказывает прямого влияния на метаболизм цитокининов, поскольку под его контролем находится структурная зона гена, кодирующего бактериальный фермент β-глюкуронидазу.

При изучении морфогенеза 7-дневных проростков *A. thaliana* в темноте было показано, что ростовые показатели генетически модифицированных проростков (длина гипокотилей и площадь семядолей) были выше по сравнению с родительской линией. В ходе длительного выращивания растений (3, 6 или 16 часов ежедневного освещения зелёным (ЗС, $\lambda_{\text{max}} = 545$ нм) или синим светом (СС, $\lambda_{\text{max}} = 430$ нм)) были показаны различия ростовой реакции для генетически модифицированных и нетрансформированных линий.

Гипокотили трансгенных проростков оказались более чувствительны к 3-часовой экспозиции на СС и 3- и 6-часовом освещении ЗС по сравнению с родительской линией.

Ответная реакция корней в ответ на деэтиоляцию проростков Was отсутствовала. СС ингибировал рост корней трансгенной линии *ARR5low* в равной степени вне зависимости от продолжительности действия, а эффект ЗС усиливался с увеличением продолжительности действия. Наибольшее подавление роста корневой системы *ARR5high* наблюдалось при 3-часовом освещении СС, увеличение световой экспозиции ослабляло данный эффект. ЗС ингибировал рост корней вне зависимости от продолжительности действия. Активация роста семядолей Was наблюдалась при 3-часовой экспозиции на СС и ЗС, аналогичная ростовая реакция семядолей трансгенных линий достигалась при увеличении периода освещения до 6 часов.

Таким образом, фотоморфогенетические реакции проростков *A. thaliana* зависели от линии и части проростка, наибольшей чувствительностью к действию СС и ЗС обладали семядоли проростков родительской линии и гипокотили генетически модифицированных проростков, а наименьшей – корневая система дикого типа.

*Работа поддержана ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы (Гос. контракт № П1369). Авторы выражают благодарность проф. J. Kieber (Ун-т Северная Каролина) за любезно предоставленные семена трансгенных линий *A. thaliana*, проф. Кузнецову В.В. (Институт физиологии растений РАН) и проф. Карначук Р.А. (Томский государственный университет) за помощь в проведении работы.*

Вклад эндогенной АБК в проявление защитного действия салициловой кислоты на проростки пшеницы при обезвоживании

Ласточкина О.В., Сомов К.А., Ишдаветова Р.С. (Уфа, Oksanaibg@gmail.com)

Салициловая кислота (СК) является эндогенным регулятором роста, выполняющим в растениях разнообразные физиологические функции. Пристальный интерес к СК связан с её способностью повышать устойчивость растений к разным по природе неблагоприятным воздействиям. Полученные нами данные о СК-индуцированном быстром транзитном накоплении абсцизовой кислоты (АБК) в растениях пшеницы позволили предположить, что реализация защитного действия СК обусловлена её способностью увеличивать концентрацию АБК в ходе предобработки и поддерживать ее повышенный уровень при стрессе.

Действительно, как показали наши данные, обработка СК вызывает в проростках пшеницы существенное возрастание уровня одного из ключевых осмопротекторов пролина, в регуляции синтеза которого участвует АБК. Кроме того, выявлено активное воздействие СК на состояние про- и антиоксидантной систем, связанное с параллельным обратимым накоплением активных форм кислорода и усилением активности антиоксидантных ферментов, в частности, пероксидазы, экспрессия генов которой находится под контролем АБК. С целью выяснения вклада эндогенной АБК в развитии СК-индуцированных защитных реакций были сопоставлены эффекты СК, а также СК в смеси с эффективным ингибитором синтеза АБК флуридоном на содержание АБК, концентрацию пролина, активность пероксидазы и уровень малонового диальдегида (МДА) в проростках пшеницы при дефиците влаги.

Известно, что разнообразные стрессовые факторы среды вызывают нарушения в гормональном балансе, связанные прежде всего со стресс-индуцированным накоплением АБК. Действительно, нами обнаружено существенное накопление АБК при дефиците влаги. СК оказывала явно защитный эффект, поскольку предобработанные СК проростки характеризовались значительно меньшим (но выше контроля) уровнем вызываемого обезвоживанием содержания АБК. Совместная с СК предобработка растений флуридоном полностью ингибировала индуцируемое дефицитом влаги увеличение уровня АБК. В то же время, флуридон полностью препятствовал проявлению защитного действия СК на растения пшеницы в условиях дефицита влаги, о чем свидетельствуют данные о полном предотвращении ингибитором АБК СК-индуцируемого накопления пролина, малонового диальдегида, а также усиления ферментативной активности пероксидазы.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют в пользу ключевой роли АБК в реализации защитного действия СК на растения пшеницы при обезвоживании.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента РФ для ведущих научных школ (НШ-915.2008.4).

Improvement of regeneration system *in vitro* inbred lines of sunflower

Malina Alena Eduardovna (Ukraine, Kiev, malinaalona@gmail.com)

Progress in genetic improvement of elite lines and hybrids of sunflower biotechnological methods is limited on two principal causes: failure of universal system of regeneration and low efficiency of stable transformation. In this connection search of factors which can make positive impact on realization morphogenetic potential is interest. At agrobacterial transformation watch

decrease in regeneration ability, therefore our researches is turn on increase of frequency of regeneration by means of modifying of nutrient mediums and application of ultrasound processing. As object of researches served inbred line of sunflower: 96A/3, 70A/3 and 16A/3 (selections of Odessa selection-genetic institute UAAN). Sterile seeds were set on a nutrient medium of Murasige-Skoog and cultivated for 3-4 days at temperature 25-26°C. As primary explant used the segment of the seedling consisting from ~1/2 of the bottom part of a cotyledon with the split top part of hypocotyl in the size of 1-2 mm. For a regeneration induction explants cultivated on nutrient medium MS modified by us (MSM) and MSM environment added thiosulfate of sodium (MSMT), in various concentration. Occurrence of the first shoots were plainly distinguishable on 6th-7th day cultivated on the medium for an induction of regeneration MSM. Frequency of regeneration for inbred sunflower lines 96A/3, 70A/3 and 16A/3 has made 31.3±2.0 %, 20.2±4.6 % and 13.9±2.0 accordingly. We selected that regeneration was observed by path of straight organogenesis. Presence thiosulfate of sodium in a nutrient medium has led to statistically authentic increase of frequency of shoot's formation inbred lines 96A/3, 70A/3 and 16A/3 approximately in 1.3, 1.7 and 2.8 times accordingly. Various influence thiosulfate of sodium on realisation morphogenetic potential of lines authenticate about genotypical dependences of an induction shoot's formation of sunflower from this component of a nutrient medium. Studying of influence of ultrasound processing on realisation authentic morphogenetic potential of sunflower has shown that at application of this method raises frequency of regeneration. After, the made experiments we have shown that on nutrient medium MSM containing 20 mg/l thiosulfate of sodium, and at parallel processing by ultrasound, as a whole, there was an increase in frequency of regeneration (duration of scoring for all tested lines is equal 15 second). The quantity of shoots for lines 96A/3, 70A/3 and 16A/3 at complex processing increased in 1.88, 2.41 and 3.58 times accordingly. It is possible to recommend the given system as a basis for methods of shoots after agrobacterial transformation.

I express gratitude to my colleagues Komisarenko A.G. and Tichchenko O.M. together with whom researches were carried out.

Нарушение полярности роста пыльцевых трубок постоянным электрическим полем Мамаева Анна Станиславовна (Москва, AnnetteSt@yandex.ru)

Растущая пыльцевая трубка – одна из лучших моделей в исследованиях механизмов полярного роста. Важную роль в регуляции этих процессов играют внутренние ионные токи. В этой связи представляет интерес вопрос о влиянии на рост трубки электрических стимулов. Показано, что направление роста пыльцевых трубок *Camellia japonica* и *Agapanthus umbelatus* изменялось под воздействием постоянного электрического поля. По некоторым данным, поле может изменять характер роста пыльцевой трубки. При изучении пыльцевых трубок *Agapanthus umbelatus*, для которых характерен осциллирующий рост, под действием осциллирующего поля наблюдали нарушение полярного роста. При этом в апикальной части трубки формировались шарообразные структуры, т.е. полярный рост сменялся изодиаметрическим. Авторы связывали этот эффект с нарушением механизма контроля осцилляций. Однако можно предположить, что нарушение полярности не связано с осцилляциями.

Мы изучали воздействие постоянного электрического поля на полярный рост пыльцевых трубок *Nicotiana tabacum* L., для которых характерен не осциллирующий, а импульсный рост. Поле (7-26 В/см, от 10 до 40 мин) создавали, используя источник тока для электрофореза и платиновые электроды. Жизнеспособность клеток оценивали с помощью красителя ФДА, наличие клеточной стенки, везикулярный транспорт в алексе пыльцевой трубки и компартментацию митохондрий изучали при помощи флуоресцентных красителей тинопала, FM4-64 и DiOC5(3) соответственно. В работе использовали флуоресцентный микроскоп Axioplan 2 imaging MOT (Zeiss), снабженный цифровой камерой AxioCam HRc. Анализ изображений проводили с помощью пакета программ AxioVision 4.7.

Под действием электрического поля (> 30 мин) до 30% пыльцевых трубок образовывали шарообразные расширения кончика, окружённые клеточной стенкой. Такие трубки сохраняли жизнеспособность. Полярность роста после прекращения воздействия не восстанавливалась. Структурная организация апикальной части таких аномальных трубок

была существенно изменена. Влияния поля на направление роста пыльцевых трубок мы не наблюдали.

Можно предположить, что нарушение организации апикального компартмента пыльцевой трубки и индукция перехода к изодиаметрическому росту обусловлены действием электрического поля на ионные токи, существующие в пыльцевой трубке.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант №08-04-00746-а). Благодарю за поддержку научного руководителя Наталию Павловну Матвееву и коллег Брейгину Марию, Лазареву Екатерину и Смирнову Анну.

Содержание антиоксидантов в растениях Куршской косы

Масленников Павел Владимирович (Калининград, pashamaslennikov@mail.ru)

Исследования, выполненные в разных странах в последние десятилетия, подтверждают, что одной из основных причин патологических изменений в человеческом организме, приводящих к преждевременному старению и развитию многих болезней, в том числе самых опасных, таких как сердечно-сосудистые и онкологические заболевания, является избыточное содержание в биологических жидкостях свободных кислородных радикалов (супероксид-анион, гидроксильный радикал, пергидроксильный радикал и др.). Вредное воздействие свободных радикалов в случае оксидантного стресса можно уменьшить за счет регулярного употребления определенных пищевых продуктов и напитков, лекарственных препаратов, биологически активных добавок (БАД), обладающих антиоксидантной активностью. Наиболее перспективными источниками этих антиоксидантов считаются растения, особенно дикорастущие. Создание банка данных по содержанию антиоксидантов в растениях – первостепенная задача в решении проблемы оксидантного стресса. Для подобных исследований большой интерес представляют растения – доминанты флоры дюн и других экологических сообществ Куршской косы, чье биологическое разнообразие обусловлено типом почв и особенностями рельефа и климата. Анализировался эндогенный уровень антоцианов, каротиноидов в листьях 11 видов растений, произрастающих на наветренной и подветренной сторонах авантюны. Оценивалась суммарная антиоксидантная активность (АОА) растительного материала. Исследовалось содержание антиоксидантов в листьях травянистых (12 видов) и древесных форм растений (21 вид), собранных в зоне палье. Таким образом, выявлены группы растений с различным содержанием антоцианов, каротиноидов и водорастворимых антиоксидантов в растительных тканях. Максимальное содержание антиоксидантов в листьях растений отмечено: антоцианов – в листьях паслена сладко-горького, марьянника дубравного и бузины черной; АОА – в листьях крушины ломкой, дуба черешчатого, хвое ели колючей; каротиноидов – в листьях марьянника дубравного и клена остролистного. Показана положительная корреляционная зависимость между содержанием антоцианов и уровнем каротиноидов, отрицательная корреляционная зависимость между содержанием антоцианов и АОА в листьях растений прибрежного дюнного комплекса и зоны палье (44 вида). Для травянистых растений и растений бузины черной, ольхи клейкой, крушины ломкой, дуба черешчатого, калины обыкновенной и осины показана отрицательная корреляционная связь между АОА и содержанием каротиноидов. Полученные данные по содержанию биологически активных соединений в исследуемых растениях Куршской косы являются комплексным показателем антиоксидантного качества растительного сырья и могут быть успешно использованы для его стандартизации.

Действие селективного света на рост суспензионной культуры *Artemisia annua* L.

Песяк Сергей Владимирович (Томск, taoekk@gmail.com)

Польнь однолетняя (*Artemisia annua* L.) издавна использовалась в китайской медицине для лечения малярии. Действующими веществами этого растения являются сесквитерпеновый лактон артемизинин и его производные. Недавние исследования показали, что артемизинин и его производные также способны проявлять противовирусный, противоопухолевый и противоописторхозные эффекты. В настоящее время главное производство артемизинина для фармакологического использования осуществляется путем

извлечения и очистки из интродуцированных растений. Однако их продуктивность во многом зависит от условий произрастания. Таким образом, необходимо либо увеличить выход артемизинина в растениях, либо использовать технологию культуры клеток и тканей. Преимущества, предоставляемые этой технологией позволяют предположить то, что культивируемые клетки *Artemisia annua* L. могут быть прекрасным источником получения артемизинина и его производных, пригодных для использования в медицинской промышленности. Существенным ограничением в создании высокорентабельных технологий является недостаточность фундаментальных знаний о регуляции уровня биологически-активных веществ в растительной клетке. Одним из важнейших природных факторов регуляции продукционного процесса растений является свет, действие которого проявляется через активацию специфических фоторецепторов (фитохромов, криптохромов и других).

В связи со всем вышеизложенным, нами были поставлены задачи получить суспензионную культуру *Artemisia annua* L., а также изучить влияние селективного света на ростовые параметры этой культуры. Была получена суспензионная культура полны однолетней. Исследовались кинетические характеристики роста этой культуры, выращиваемой на среде с содержанием фитогормонов НУК и БАП. Установлено, что на девятые сутки культивирования суспензионной культуры происходит удвоение количества клеток. Максимальных размеров клетки также достигали на девятые сутки. Исследовалось влияние селективного красного и синего света на ростовые параметры этой культуры. Световой поток был выровнен по падающим квантам на уровне $80 \text{ мкмоль м}^{-2} \text{ с}^{-1}$. Значимых отличий в размерах клеток, выращиваемых на селективном красном и синем свету обнаружено не было. Максимальных значений индекса роста, а также накопления сухой биомассы были получены у суспензионной культуры, выращиваемой на синем свету.

Таким образом установлено, что синий свет достоверно стимулировал рост суспензионной культуры полны однолетней, в то время, как красный свет не оказывал влияния на ростовые параметры.

Работа была выполнена в рамках гранта РФФИ, гранта ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» и программы «У.М.Н.И.К.» Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере. Выражаю благодарность научному руководителю, д.б.н. Карначук Р.А. за помощь в работе, доценту Головацкой И.Ф. за проведенные измерения интенсивности освещения а также сотрудникам кафедры физиологии растений и биотехнологии.

Влияние формы минерального азота на морфологию корневой системы

Сидоренко Екатерина Сергеевна (Москва, kleo80@yandex.ru)

В настоящее время в научной литературе широко обсуждается вопрос о регуляторных свойствах нитрата. Показано участие этого иона в индукции многих генов N и C обменов, а также в процессах формирования корневой системы. Морфогенетическая роль нитрата представляет большой интерес и требует детального изучения. В данной работе исследовали влияние нитрата на рост боковых корней.

В качестве объектов были выбраны кукуруза (*Zea mays* L.) с. «Катарина», томат (*Lycopersicon esculentum* Mill.) с. «Ямал» и цветная капуста (*Brassica oleracea* L.) с. «Snowball». Растения кукурузы выращивали в водной культуре на 1/2 среды Приянишникова с разными источниками азота: KNO_3 (NO_3 -вариант), $(NH_4)_2SO_4$ (NH_4 -вариант), а также без азота (0_N -вариант). Измерение длин главного (ГК) и боковых корней (БК) производили у проростков в возрасте 5-10 дней один раз в сутки. Число БК подсчитывали на участке 15 мм в базальной зоне корня. 6-дн. проростки NH_4 - и 0_N -вар. с видимыми невооруженным глазом зачатками БК в течение 4 ч экспонировали на раствор KNO_3 , после чего корни промывали и помещали в питательные растворы с прежним составом. Растения томатов и цветной капусты выращивали в течение 14 дней на агаризованных средах, содержащих $CaSO_4$, с KNO_3 , $(NH_4)_2SO_4$ или без азота, а также с KNO_3 и АБК.

Число БК в базальной части ГК кукурузы не зависело от формы и наличия азота в питательной среде. У растений двух других видов в NH_4 -вар. число БК было меньше по сравнению с NO_3^- - и θ_N -вар., особенно у томатов. Для NO_3^- -вар. было характерно удлинение ГК и БК по сравнению с NH_4 -вар. у растений всех исследованных видов. Однако для томатов и цветной капусты отсутствие азота в среде являлось еще более сильным фактором, стимулирующим рост корней. После кратковременной экспозиции на NO_3^- у кукурузы NH_4 -вар. наблюдали четырехкратное увеличение скорости роста БК по сравнению с контрольными растениями, причем величины прироста БК в апикальной и базальной зонах корня были сравнимы, что не было свойственно для БК разных зон у контрольных растений. Для исследования природы стимулирующего действия нитрата был проведен эксперимент с заменой NO_3^- на Cl^- в среде выращивания. Установлено, что стимулирующий эффект хлорида на рост БК был незначительным. Можно предположить, что индукция роста БК обусловлена не осмотическими свойствами нитрата.

АБК являлась антагонистом нитрата по действию на рост корней. При добавлении АБК в среду выращивания у томатов и цветной капусты наблюдали снижение скорости роста ГК и БК, а также уменьшение числа БК по сравнению с NO_3^- -вар. Степень подавления роста корней зависела от концентрации АБК и вида растения. Обсуждается роль нитрата в активации апикальной меристемы БК.

Модификация пероксидазной активности в процессе дезиоляции проростков пшеницы *Triticum aestivum* L.

Томлин Михаил Владимирович (Бор, Tom0990@yandex.ru)

Пероксидаза (ПО) – один из важных ферментов «двойного назначения», вовлечённых как в процесс генерации, так и детоксикации активных форм кислорода (АФК). Полифункциональность данного фермента позволяет предполагать его активное участие в контроле уровня АФК и, как следствие, процессов роста, механизмов формирования реакции растений на действие экологических факторов, ведущий из которых – свет. Цель настоящей работы – исследовать динамику активности пероксидазы в побегах и корнях проростков пшеницы при смене светового режима.

Опытными объектами служили этиолированные проростки яровой пшеницы сорта «Московская 35» (водная культура), которые в возрасте 5-6 дней переносили под люминесцентные лампы (освещенностью 10 000 Люкс). Общую пероксидазную (ПО) и НАДН-ПО активности растворимых (цитозольных) фракций, выделенных из побегов и корней проростков пшеницы, определяли через 5, 10, 15, 30 и 60 мин экспонирования проростков на свету. Ферментативную активность оценивали спектрофотометрически: общую (субстрат-4,4'-диаминодифенил; $\varepsilon_{590}=39 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$), НАДН-ПО (субстрат-НАДН, $\varepsilon_{340}=4,23 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$). Активность фермента выражали в ммоль субстрата·мг ГСБ⁻¹·мин⁻¹. Концентрацию гемсодержащего белка (ГСБ) в пробах определяли спектрофотометрически (403 нм).

Кратковременное действие света (5-60 мин) на проростки пшеницы вызывало изменение уровня ГСБ. Интересно, что этот эффект был неоднозначным: в побегах свет снижал содержание ПО белка в 1,5 раза при 30 мин воздействия; в корнях, по отношению к контролю, индуцировал почти двукратное увеличение. Таким образом, в процессе дезиоляции проростка происходят органоспецифические изменения в белковом спектре возрастания доли пероксидазного белка в корнях и снижение в побегах. Уровень общей ПО активности у наземных органов этиолированных проростков, в сравнении с корнями, был в 12,5 раза меньше, специфической НАДН-ПО активности в 3,9 раза выше. В процессе дезиоляции выявлено светозависимое снижение общей ПО и нарастание оксидазной активности фермента (НАДН-ПО), как в побегах, так и в корнях проростков пшеницы. Следовательно, кратковременное действие света может вызывать переключение с пероксидазной на оксидазную активность, смещая тем самым баланс в пероксидазной ферментной системе в сторону её прооксидантной функции. Последнее особенно характерно для побегов исследуемых проростков пшеницы. Таким образом, в процессе дезиоляции в клетке, за счёт изменений в пероксидазной системе, может происходить нарастание

генерации АФК в виде свободных радикалов. Мы полагаем, что это один из возможных механизмов участия пероксидаз в адаптации растений к изменяющимся условиям внешней среды.

Перспектива использования индолил-3-уксусной кислоты для ускорения роста и развития *Hibiscus esculentus* L. и *Hibiscus manihot* L. на юго-востоке Украины
Третьякова Елена Юрьевна (Украина, Донецк, helen_tretyakova@ukr.net)

Продовольственная проблема постоянно предусматривает обогащение ассортимента пищевых растений и повышение их продуктивности, адаптационной способности. К таким малораспространённым растениям с высокой пищевой, лекарственной, технической ценностью, которые заслуживают широкого введения в практику на юго-востоке Украины относятся: *Hibiscus esculentus* L., и *Hibiscus manihot* L. *H. esculentus*, или гибискус съедобный, бамя,okra – однолетнее травянистое тропическое растение из семейства Malvaceae, популярное у народов Индии, Малой Азии, Центральной Америки, овощная культура *H. manihot* или айбика, солнечный гибискус – многолетнее (в культуре однолетнее) травянистое растение из семейства Malvaceae представляет собой комплексно используемую культуру в Египте, странах тропической Азии. Бамя и айбика представляют интерес как новые высокобелковые культуры на юго-востоке Украины, очень ценный диетический продукт. Так как, *H. esculentus*, *H. manihot* характеризуются длительным вегетативным периодом развития, поэтому возникает необходимость ускорения прорастания семян, роста и развития растений с помощью биологически активных веществ. Целью нашей работы было изучение особенностей всхожести, роста и развития *H. esculentus*, *H. manihot* под влиянием предпосевной обработки семян индолил-3-уксусной кислотой (ИУК), определение оптимальной концентрации ИУК для предпосевной обработки семян бами и айбики. В ходе исследований была определена оптимальная концентрация ИУК для обработки семян *H. esculentus*, *H. manihot* – 10 мг / л при 2-х часовой экспозиции. Установили, что при обработке семян бами, айбики растворами ИУК оптимальной концентрации повышалась энергия прорастания и всхожесть семян, увеличивалась длина корня, скорость роста корня. Полученные данные по влиянию ИУК на семена *H. esculentus*, *H. manihot* в лабораторных опытах были взяты за основу при проведении полевых исследований. В результате проведенных исследований, установлено, что предпосевная обработка семян *H. esculentus*, *H. manihot* растворами оптимальной концентрации индолил-3-уксусной кислоты способствует ускорению прорастания семян, переходу растений от одной фазы развития к следующей, увеличению морфометрических параметров растений разных возрастных состояний (высоты растений, диаметра стебля, длины корня, количества боковых корней), по сравнению с контролем. Было установлено, что предпосевная обработка семян *H. esculentus*, *H. manihot* растворами ИУК оптимальной концентрации способствует ускорению прорастания семян, роста и развития растений, что необходимо в связи с их длительной вегетацией в условиях интродукции на юго-востоке Украины.

Спектр фенотипов растений ячменя, сформированных на базе мутации *chlorina* 3613
Тютерева Елена Владимировна (Санкт-Петербург, tuterlena@mail.ru)

Мутанты ячменя *chlorina*, характеризуются полным отсутствием хлорофилла *b* в составе пигментного комплекса хлоропластов и, в связи с этим, жёлто-зелёной окраской надземных частей. До сих пор считалось, что это – единственный фенотип, который может формироваться у растений с мутацией типа *chlorina*.

Нами получен спектр из трёх устойчивых фертильных фенотипов растений на базе мутации *chlorina* 3613 (мутант ячменя линии f2 с жёстко заблокированным синтезом Хл *b*), которые различаются множеством морфотипических, физиологических и биохимических характеристик разных частей растения.

Растения ячменя *chlorina* 3613 с первым (исходным) фенотипом вегетируют и воспроизводятся в течение десятков лет в условиях открытого грунта и моновидового посева, полностью соответствуя описаниям растений линии f2 в литературе

(Sagromsky, 1974; Leverenz et al., 1992). Внешне растения этого фенотипа соответствуют своей маркировке: «*chlorina*» – жёлто-зелёные.

Второй фенотип был получен нами созданием для растений глубоко пониженного уровня инсоляции (40% от полной) на семь суток в момент вступления растений первого (исходного) фенотипа в фазу цветения. Фенотип сменился за семь дней. Он, как и первый, не имеет Хл *b*, но отличается светло-зелёным цветом надземных частей, в несколько раз большими размерами листьев и стеблей, вдвое более высокой зерновой продуктивностью. Полученный фенотип, названный нами «светло-зелёный», устойчиво сохраняется вплоть до завершения онтогенеза (длительность которого на 10-15 суток превышает таковую у растений жёлто-зелёного фенотипа).

Третий фенотип был получен нами выращиванием растений из семян от растений второго фенотипа без экспериментальных воздействий. По размерам, зерновой продуктивности и длительности онтогенеза он соответствует светло-зелёному фенотипу, но разительно отличается сине-зелёным цветом листьев и наличием в составе набора пигментов Хл *b*. Этот фенотип, названный нами «сине-зелёный», принципиально не изменяется на протяжении всего онтогенеза.

Сине-зелёный фенотип более всего внешне похож на фенотип ячменя cv *Donaria* (родительская форма мутанта *chlorina* 3613), но отличается менее выраженной синевой листьев и архитектурой особи. Спектральные характеристики комплексов ССКII cv *Donaria* совпадают с характеристиками этих комплексов у растений сине-зелёного (третьего) фенотипа, но резко отличаются от таковых у растений жёлто-зелёного (исходного) фенотипа.

В популяциях экспериментальных растений трёх полученных фенотипов различие изученных характеристик в пределах каждого фенотипа несоизмеримо меньше, чем между фенотипами.

В синезелёных водорослях (*Synechocystis* sp. PCC 6803) обнаружены АБК-связывающие белки

Шевченко Галина Васильевна (Москва, tuzbuben@zmail.ru)

Согласно современным представлениям, хлоропласты произошли от древних фотосинтезирующих цианобактерий. Так как наибольшее влияние из фитогормонов на развитие хлоропластов оказывают цитокинины и абсцизовая кислота (АБК), возникает вопрос, не участвуют ли фитогормоны в регуляции физиологических процессов не только в пластидах, но и в цианобактериях. Несмотря на большой прогресс в изучении механизма действия абсцизовой кислоты, отсутствуют какие-либо данные о влиянии АБК на цианобактерии и абсолютно не исследуется вопрос об эволюции сигналинга АБК. В связи с этим задача работы заключалась в выяснении возможности существования в цианобактериях отдельных компонентов регуляторной системы абсцизовой кислоты. АБК-связывающие белки (АСБ) выделяли из растворимой фракции лизированных клеток цианобактерий, используя многоступенчатый процесс, включающий аффинную хроматографию на сефарозе с иммобилизированной АБК и последующее разделение с помощью одномерного электрофореза. Идентификация гормон-связывающих белков проводилась методом иммуноблоттинга с помощью полученных нами и очищенных антиидиотипических антител (АТa-*i*) к АБК, которые фактически являются антителами к рецептору гормона. Белки, связывающиеся с АТa-*i*, не взаимодействуют с преиммунными АТ и АТ, полученными к АБК, что говорит о высокой специфичности взаимодействия. Результаты показали, что антитела взаимодействовали с полипептидами, имеющими молекулярные массы 23, 50, 60 и 67 кДа, что доказывает АБК-связывающие свойства этих полипептидов. Среди белков, элюированных с АБК-сефарозной колонки, идентифицируются два полипептида с молекулярными массами 73 кДа и 23 кДа связывающиеся с поликлональными антителами к фрагменту белка С1Р2.1 люпина желтого, экспрессия гена которого контролируется АБК. Функциональная активность АСБ была исследована по методу, применяемому ранее для характеристики транскрипционной активности цитокинин-связывающих белков различных растительных объектов в разработанной нами

транскрипционной системе на основе *Synechocystis* sp. PCC 6803. При проведении опыта использовали в качестве транскрипционной системы растворимую фракцию лизата цианобактерий, содержащую ДНК, РНК-полимеразу и необходимые факторы транскрипции. Непосредственное добавление абсцизовой кислоты в концентрации 10^{-6} М в реакционную среду существенно активировало тотальную транскрипцию. АБК-связывающие белки, выделенные с помощью АБК-сефарозы, также повышали активность синтеза РНК. При совместном действии АСБ и абсцизовой кислоты эффект был несколько большим, чем в присутствии только АСБ. Это позволяет предположить, что АСБ являются транскрипционными факторами, участвующими в регуляции транскрипции генома *Synechocystis* sp. PCC. Представленные результаты подтверждают предположение о том, что гормональная система, хотя бы частично, была передана высшим растениям от предшественников хлоропластов – цианобактерий.