

Free radical scavenging activity, flavonoid content and antibacterial activity of some herbs grown in Armenia

Hovhannisyan Davit, Rukhkyan Michael, Gasparyan Georgi, Zagorski Karen

Russian-Armenian (Slavonic) University, Faculty of Biomedicine, Yerevan, Armenia
raubioinf@gmail.com

Plants of *Lauraceae*, *Lamiaceae* and *Hypericaceae* families are common and frequently used medicinal herbs. The literature contains few reports of antioxidant activity and chemical composition of these plants. In the present study we carried out a comparative analysis of the free radical scavenging activity, flavonoid content and antibacterial activity of different extracts of several Armenian plant species to evaluate their capacity as a new potential source of natural antioxidants and phenolic compounds.

In the present study we investigated the *in vitro* antioxidant activity of *H. perforatum*, *L. nobilis* (Bay) and *O. basilicum* leaf extracts by DPPH method. The total flavonoid content was evaluated by $AlCl_3$ method. The antibacterial effect of extracts was investigated by disc-diffusion method on agar.

Experimental results indicate that ethanol extract of *H. perforatum* leaves has exhibited the largest radical scavenging capacity (RSC), while the smallest RSC had the aqua extract of *L. nobilis*. The antioxidant activities of tested extracts relate to DPPH stable radical may be order according following decrease row: *eth. H. perforatum* > *aq. H. perforatum* > *eth. Bay* > *aq. Basil* > *eth. Basil* > *aq. Bay*. The *E.coli* K12 bacteria showed sensitivity to the presence of all tested extracts. However, the results indicated that the ethanol extract of *H. perforatum* exhibited the highest inhibition effect towards *E.coli* K12. We had also found a correlation between the amount of flavonoids and antiradical activity in *L. nobilis* leaf extracts.

Иммунодетекция гуанилатциклазы в растениях *Arabidopsis*

Бакакина Юлия Сергеевна, Содель Дмитрий Леонидович,

Колеснева Екатерина Владимировна, Дубовская Людмила Вячеславовна

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь
bakakinay@mail.ru

В настоящее время показано, что гуанилатциклазная сигнальная система, основными интермедиатами которой являются циклический гуанозин 3',5'-монофосфат (цГМФ) и фермент его синтеза – гуанилатциклаза (ГЦ), играет ключевую роль в стрессовой сигнализации в растительной клетке. Однако в литературе имеются лишь ограниченные данные о присутствии ГЦ в растениях, основанные, в основном, на ингибиторном анализе и измерении ферментативной активности. Следовательно, целью данной работы было охарактеризовать ГЦ-подобный белок в растениях арабидопсиса и выяснить его преимущественную локализацию.

В работе использовали метод иммуноблоттинга с применением специфических антител к растворимой и мембранной изоформам ГЦ млекопитающих. В результате проведенных экспериментов ГЦ-подобный фермент был обнаружен во всех изученных субклеточных фракциях проростков *Arabidopsis* (грубый гомогенат, растворимая и мембранная фракции). При этом в грубом гомогенате и растворимой фракции с использованием антител к растворимой ГЦ детектировано две белковые полосы (25 и 50 кД), в мембранной – три (37, 45 и 50 кД), в то время как с помощью антител к мембранной ГЦ во всех изученных фракциях был выявлен только один белок (50 кД).

Таким образом, впервые с помощью иммуноблоттинга с использованием антител к ГЦ млекопитающих детектирована ГЦ в растворимой и мембранной фракциях растений *Arabidopsis*. Как известно, в клетках млекопитающих мембраносвязанная ГЦ является гомодимером, состоящим из двух субъединиц массой 120 кД, а растворимая ГЦ представлена гетеродимерным белком, состоящим из α - и β -субъединиц с молекулярными массами 73-82 кД и ~70 кД, соответственно. Можно предположить, что в растениях *Arabidopsis* присутствует новый класс ГЦ, отличающихся от известных ГЦ животных и имеющих молекулярные массы субъединиц 25, 37, 45 и 50 кД.

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований, грант №Б11М-191. Авторы выражают благодарность

научному руководителю академику НАН Беларуси Волотовскому И.Д. за помощь в планировании работы и обсуждении результатов.

Влияние степени освещенности и биологически активных веществ на устьичный аппарат и площадь листовой пластинки листьев щавеля кислого – *Rumex acetosa* L. сорта крупнолистный

Белькова Анастасия Валерьевна

Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А.Тимирязева,
Факультет ВЗО и ДО, Москва, Россия
belkova_86@mail.ru

Исследование посвящено изучению изменения соотношения количества устьиц и основных клеток эпидермы нижней и верхней поверхности листьев щавеля Крупнолистного (*Rumex acetosa* L.) в условиях естественного освещения и затенения, и использования биологически активных веществ для компенсации недостатка освещенности.

Опыт проводили в трех вариантах: контроль, с обработкой силикатом натрия (0,6% раствор) и гибберелловой кислотой (0,03% раствор) в 18 повторностях. Нами были определены тип устьичного аппарата, количество замыкающих клеток устьиц, рассчитаны плотность устьиц и устьичный индекс в условиях различной степени освещенности.

Известно, что для листьев *R. acetosa* характерен анизокитный тип устьичного аппарата. Нами установлено, что для растений, выращенных в тени, плотность устьиц на нижней эпидерме на 68,8% больше, чем на верхней эпидерме, тогда как для растений, выращенных на свету, плотность устьиц на нижней эпидерме на 52,9% выше, чем на верхней.

Обработка силикатом натрия растений, выращенных в тени, по сравнению с растениями, выращенными на свету, привела к увеличению плотности устьиц на 11%, однако площадь листовой пластинки растений, выращенных на свету, на 34,3% превышала этот показатель для растений, выращенных в тени.

Обработка гибберелловой кислотой растений, выращенных при естественном освещении по сравнению с растениями, выращенных в условиях затенения, привела к увеличению плотности устьиц на 12%, увеличению площади листовой пластинки на 38,34% в условиях затенения, что подтверждает способность гибберелловой кислоты компенсировать недостаток света. Кроме того, гибберелловая кислота в условиях затенения способствует увеличению размера замыкающих клеток устьиц на 10,15%.

Автор выражает благодарность научным руководителям доценту кафедры ботаники Л.Н. Козловской и доценту кафедры экологии И.В. Сластя.

Содержание фенолов и аскорбиновой кислоты в ягодах брусники и клюквы

Березина Екатерина Васильевна, Носкова Юлия Сергеевна

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,
Нижний Новгород, Россия, berezina_ek@52.ru

Ягоды брусники и клюквы имеют ценное пищевое и фармацевтическое значение, которое во многом определяется содержащимися в них фенолами и витамином С. Цель работы – сравнить содержание общих растворимых фенольных соединений (ОРФС), флавонолов, антоцианов, катехинов, аскорбиновой кислоты (АК) в ягодах брусники и клюквы.

Исследовали ягоды двух популяций брусники обыкновенной (*Vaccinium vitis-idaea* L.), двух видов клюквы – болотной (*Oxycoccus palustris* Pers.) и интродуцированной крупноплодной (*Oxycoccus macrocarpus* (Ait.) Pers., сорт Стивенс). Клюкву крупноплодную собирали в Ботаническом саду ННГУ, болотную – в лесах Арзамасского района, бруснику – Арзамасского (южная популяция), Балахнинского (северная) районов Нижегородской области. Содержание исследуемых веществ определяли спектрофотометрически (UV-1700 (Shimadzu)).

Большим количеством фенолов характеризуются ягоды балахнинской популяции брусники (мг/г сырой массы): ОРФС – 19, флавонолы – 4 (21% от ОРФС), антоцианы – 0.32. По содержанию ОРФС им немного уступают ягоды арзамасской популяции брусники (12 мг/г

сырой массы) и клюквы крупноплодной (10); значительно уступают ягоды клюквы болотной (9). Антоцианов в ягодах балахнинской брусники в два раза больше, чем в ягодах других исследованных растений; флавонолов – в 2-4 раза, катехинов – в 3-4 раза. Ягоды клюквы болотной вдвое превосходят американский вид по содержанию флавонолов, незначительно уступая по содержанию ОРФС и катехинов. Наибольшим количеством АК отличается клюква болотная (98 мкг/г сырой массы), наименьшим – крупноплодная (55); промежуточное значение у брусники, как балахнинской (77), так и арзамасской (64) популяций.

Итак, ягоды брусники, особенно северной популяции, отличаются наибольшим содержанием фенолов. В южных широтах выше уровень инсоляции, способствующей синтезу фенольных соединений, однако в данном случае, очевидно, основную роль в накоплении фенолов в северной популяции сыграла засуха, сильно сказавшаяся на болотах Балахнинского района. В связи с более низким содержанием ОРФС у клюквы болотной главная роль в антиоксидантной системе переходит к АК, с чем связан ее повышенный синтез. Клюква крупноплодная, 4 года назад микроклонально размноженная и высаженная в грунт, сохраняет характерный для вида низкий уровень накопления АК.

Особенности взаимодействия бактерий *Azospirillum brasilense* Sp 245 с микроклонами картофеля и хризантемы в условиях *in vitro* и *in vivo*

Букарев Роман Владимирович, Бойкова Н.В. *, Дмитриенко В.В. **, Попова И.А. **

Саратовский Государственный университет им. Н.Г.Чернышевского, Саратов, Россия

**Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И.Вавилова, Саратов, Россия*

***Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, Саратов, Россия*

bukarev_r@mail.ru

Бактерии рода *Azospirillum* являются одним из широко исследуемых и перспективных объектов в изучении явления растительно-микробной ассоциативности. Установлено их положительное влияние на рост, развитие и повышение устойчивости к фитопатогенам растений. Целью исследования является изучение влияния бактерий *Azospirillum brasilense* Sp245 на рост микроклонов картофеля и хризантемы в условиях *in vitro* и на адаптацию растений к условиям *in vivo*.

Растения картофеля сорта Кондор и хризантемы сорта Белый шар, культивируемые на среде МС *in vitro*, инокулировали бактериями штамма *A. brasilense* Sp245 в концентрации 10^6 кл/мл. Определяли изменение морфологических параметров растений в процессе культивирования *in vitro* и в почве *in vivo*. Изучали характер распределения численности бактерий на корнях растений методами иммунофлуоресцентной микроскопии, иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием специфических антител к клеткам *A. brasilense* Sp245 и определения колониеобразующих единиц (КОЕ).

Установлено положительное влияние бактерий на все исследуемые морфологические параметры микроклонов хризантемы, как в условиях *in vitro*, так и при адаптации растений *in vivo*, а также на увеличение коэффициента размножения микроклонов картофеля *in vitro*. С использованием иммунофлуоресцентной микроскопии установлено, что бактерии локализуются в области кончика корня и в зоне корневых волосков. По данным ИФА концентрация бактерий в питательной среде, где культивировались растения хризантемы и картофеля *in vitro*, на 20-е сутки культивирования составила 10^7 кл/мл, а на корнях растений – 10^6 кл/см². В экспериментах *in vivo* по выявлению азоспирилл на корнях картофеля и хризантемы были обнаружены колонии *A. brasilense* Sp245 после посева корневых экстрактов на плотную питательную среду.

Дальнейшие исследования актуальны в направлении стандартизации создания ассоциативного симбиоза растений с ростостимулирующими бактериями, в частности с азоспириллами, в целях совершенствования технологии микроклонального размножения растений *in vitro*.

Промоторный анализ АБК-регулируемых генов, кодирующих PD40-содержащие белки *A.thaliana* и *O.sativa*

Виноградов Никита Сергеевич

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений
им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия

Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева,
агрономический факультет, Москва, Россия, act_of_eureka@mail.ru

В предыдущих работах в нашей лаборатории был выделен и охарактеризован АБК-регулируемый ген *CIP2.1* из *Lupinus luteus*, кодирующий белок с PD40 повторами, которые служат основой для формирования бета-пропеллерной структуры – распространенного консервативного домена для белок-белковых взаимодействий. Был идентифицирован фрагмент *CIP2.1* (cip154fr) и показано, что он способен связывать АБК (абсцизовую кислоту). Эти результаты, в совокупности с нашими работами на инсерционных мутантах *A.thaliana* по генам-гомологам *CIP2.1*, позволили сделать вывод о вовлеченности *CIP2.1* и гомологичных ему PD40-содержащих белков в сигналинг АБК, которая является важным регулятором развития и устойчивости растений. Поскольку для *CIP2.1* была показана положительная регуляция на уровне мРНК и белка в ответ на обработку АБК, гипотермию и засоление, а его гомологи найдены в геномах 22 растений, важной задачей является изучение регуляторных особенностей *CIP2.1*-гомологичных генов.

В настоящей работе был проведен биоинформатический анализ последовательностей промоторов этих генов, кодируемых геномами арабидопсиса и риса. С использованием онлайн-сервисов (Athena и Osiris) было проанализировано 6 промоторных зон. Определены предположительные промоторные области изучаемых генов. В рамках этих областей найдены регуляторные мотивы, среди которых присутствуют последовательности ABRE, характеризующиеся АБК-зависимостью, а также зоны, связывающие трансфакторы семейства MYB, которые также вовлечены в ответы на АБК и стрессы. Для экспериментальной проверки регуляции были выбраны промоторные зоны ближайших гомологов *CIP2.1* – *At4g01870* и *Os12g0431300* из арабидопсиса и риса, соответственно. В вектор для промоторного анализа PCXGUS-P серии ZeBaTA, содержащий репортерный ген GUS была проклонирована серия 5'-делеционных фрагментов этих промоторов. Все конструкции будут использованы для транзientной агробактериальной трансформации растений табака, и затем экспрессия репортерного гена будет проходить в различных условиях (обработка АБК и стрессы) для выявления фрагментов промоторов, содержащих регуляторные зоны, отвечающие на АБК и различные стрессовые факторы. Данная работа позволит изучить принципы регуляции нового семейства PD40-содержащих белков и их участие в передаче сигнала АБК.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ (грант № 10-04-00594).

2,4-Д как индуктор формирования полиэмбрионидов пшеницы в культуре *in vitro*

Галин Ильшат Рафкатович

Институт биологии Уфимского НЦ РАН, Уфа, Россия

ilshat.rafkatovitch@gmail.com

Получение гаплоидов в культуре *in vitro* изолированных пыльников – один из перспективных биотехнологических подходов, используемых в селекции экономически важных сельскохозяйственных культур, в том числе яровой мягкой пшеницы – основного хлебного злака. Биотехнологически оптимальным путем морфогенеза *in vitro* в культуре пыльников пшеницы является прямой эмбриоидогенез, индуцируемый введением в состав питательной среды Potato II синтетического гормона ауксинового типа действия 2,4-Д в определенной концентрации. Основная проблема получения гаплоидов посредством прямого эмбриоидогенеза – низкий выход растений-регенерантов. Один из способов решения этой проблемы – индукция образования полиэмбрионидов – особого типа эмбрионидов, для которых характерно формирование в их апикальной части множественных точек роста. Цель

исследования – выявить оптимальную концентрацию 2,4-Д, при которой выход полиэмбрионидов является максимальным.

Объектом исследования послужил сорт яровой мягкой пшеницы Жница. Использован метод культуры *in vitro* пыльников яровой мягкой пшеницы. Нами были использованы варианты среды Potato II, которые различались только по концентрации 2,4-Д (от 0.0 до 2.0 мг/л с шагом 0.5 мг/л). Для каждого варианта отобрали 100 инокулированных пыльников. Частоту новообразований *in vitro* определяли как отношение количества структур к общему количеству инокулированных пыльников. В ходе выполнения экспериментов установлено, что индукция формирования полиэмбрионидов происходит при внесении в питательную среду самых низких концентраций 2,4-Д, способных вызвать индукцию морфогенеза *in vitro* в культивируемых пыльниках пшеницы (для сорта Жница это значение составляет 0.5 мг/л). Преимущественное формирование полиэмбрионидов в культивируемых *in vitro* пыльниках пшеницы сорта Жница происходит при введении в индукционную питательную среду 2,4-Д в концентрации 1.0 мг/л. Таким образом данная концентрация 2,4-Д является оптимальной концентрацией для наиболее высокого выхода полиэмбрионидов в культивируемых *in vitro* пыльниках пшеницы сорта Жница.

Влияние экзогенных фитогормонов на всхожесть семян трансгенных растений табака с изменённым уровнем мевалоната

Ермошин Александр Анатольевич

Уральский федеральный университет, Екатеринбург, Россия

ermosh@el.ru

Изопреноиды – один из классов метаболитов растений, биосинтез которых происходит по двум метаболическим путям. Взаимодействие данных путей до сих пор подробно не изучено. Известно, что изопреноидные фитогормоны могут синтезироваться как в цитозоле (цитокинины и брассиностероиды), так и в хлоропласте (гиббереллины и АБК). Другие изопреноиды – стерины – вовлечены в рецепцию фитогормонального сигнала, в частности ауксинового.

В ФИБХ РАН (Пушино) получены трансгенные растения табака с геном *hmg1* в прямой и обратной ориентациях относительно промотора CaMV 35SS с целью изменения уровня мевалоновой кислоты – ключевого предшественника в цитоплазматическом биосинтезе изопреноидов. Для растений с антисмысловой формой гена *hmg1* показаны снижение всхожести семян и замедление роста проростков. Возможно, это обусловлено дефицитом фитогормонов в зародыше семени или нарушением рецепции гормонального сигнала из-за изменений свойств мембраны. Проведена обработка семян табака контрольной линии, двух линий с антисмысловой копией гена *hmg1* и одной «смысловой» линии растений табака экзогенными фитогормонами (БАП, ГА₃) в концентрациях 0, 1, 3, 10 мг/л. Определяли всхожесть семян и скорость роста проростков.

Семена всех линий на всех гормональных фонах начинали прорастать одновременно, однако отличались скоростью роста и всхожестью. Растворы гормонов не оказали влияния на всхожесть семян «смысловых» растений, не действовали на контрольные семена или вызывали незначительное (на 12%) ингибирование их всхожести (10 мг/л БАП). Только у одной из двух линий «антисмысловых» растений всхожесть семян увеличилась на 72-88% при обработке цитокинином. Под влиянием гиббереллина всхожесть семян обеих «антисмысловых» линий увеличивалась линейно с ростом концентрации гормона. Мы предположили, что снижение всхожести семян «антисмысловых» линий растений связано с дефицитом эндогенных гормонов изопреноидной природы. Продолжаются исследования влияния других фитогормонов на всхожесть семян, параметры роста и на содержание пигментов в проростках.

Работа выполнена при поддержке фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере в рамках программы УМНИК (проект № 16784) и ФЦП «научные и научно-педагогические кадры инновационной России» (ГК № 14.740.11.1032).

Жи́рно-кислотный состав липидной фракции перикарпия созревающих плодов бересклета европейского

Кизеев Алексей Николаевич

*Учреждение Российской академии наук Полярно-альпийский ботанический сад-институт им. Н.А. Аврорина Кольского научного центра РАН, г. Анатиты, Россия
aleksei.kizeev@mail.ru*

В последнее время большое внимание исследователей привлекают препараты растительного происхождения, содержащие полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК), многие из которых являются незаменимыми для человека. Вот почему значительный интерес проявляется сегодня к изучению жирнокислотной составляющей плодов лекарственных растений, в частности такого ценного из них, как бересклет. Целью данной работы было определение содержания высших жирных кислот в перикарпии плодов бересклета европейского (*Euonymus europaeus* L.) в процессе их созревания.

Образцы растительного материала отбирали на разных стадиях созревания плодов (стадия глобулярного зародыша, зрелого зародыша и зрелого плода) в Главном ботаническом саду им. Н.В. Цицина РАН в 2010 г., а исследования проводили в 2011 г. в Институте физиологии растений им. К.А. Тимирязева (ИФР) РАН. Качественный состав липидов устанавливали с помощью метода тонкослойной хроматографии, их жирнокислотный состав – методом газожидкостной хроматографии с использованием хроматографа Agilent Technologies (США). Результаты анализировали с помощью системы сбора и обработки хроматографических данных GC_MS/Enhanced (США).

Было установлено, что основными липидными компонентами всех образцов являются стерины и их эфиры, свободные жирные кислоты и их эфиры, а также триацилглицериды. Во всех образцах преобладали линолевая (C18:2), линоленовая (C18:3) и олеиновая (C18:1) кислоты, содержание которых несколько уменьшалось от стадии глобулярного зародыша к стадии зрелого зародыша, после чего заметно возрастало к стадии зрелого плода изучаемого растения. При этом наблюдалась противоположная динамика доминирующих насыщенных – пальмитиновой (C16:0) и стеариновой (C18:0) кислот. Полученные данные согласуются с распространенными представлениями об использовании насыщенных жирных кислот в синтезе ПНЖК. Были также рассмотрены особенности липидного метаболизма на разных стадиях созревания плодов. Таким образом, проведенные исследования позволили впервые получить ценную информацию о липидном обмене созревающих плодов бересклета.

Автор выражает глубокую признательность за помощь в проведении экспериментов сотрудникам ИФР РАН и особую благодарность заведующему лаборатории липидного обмена, к.б.н. В.Д. Цыдендамбаеву.

Накопление кадмия растениями кукурузы (*Zea mays* L.) и его влияние на рост, развитие и накопление фотосинтетических пигментов

Клаус Александр Александрович

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия
klaus.alexander@rambler.ru*

Кадмий является одним из наиболее токсичных тяжёлых металлов. Кадмий, попавший в организм растений, способен подавлять большинство их физиологических процессов, таких как фотосинтез, дыхание, минеральное питание, водный обмен. Поскольку отдельные виды растений различаются по устойчивости к кадмию и по тому, как поглощённый тяжёлый металл распределяется по их органам, имеет смысл подробно изучить воздействие и распределение кадмия на примере интересующего растения. Для того чтобы оценить токсическое воздействие кадмия на рост растений кукурузы мы подвергали их воздействию кадмия на разных стадиях развития от прорастающих зерновок до стадии молодого растения. Самая ранняя из изученных стадий развития (прорастание зерновок) оказалась наиболее устойчивой к воздействию кадмия. Лишь при высоких концентрациях кадмия (500-2000 мкМ) мы обнаружили замедление роста

корня после 3-х суток воздействия. Для оценки степени токсического воздействия кадмия на проростки кукурузы тяжёлый металл вносили в среду выращивания в возрасте 3-х дней. Степень токсического воздействия различных концентраций кадмия (диапазон 4-200 мкМ Cd^{2+}) мы оценивали на 9-ти дневных растениях после 6-ти суток стресса. Полученные нами данные позволяют предположить, что рост корней подавляется кадмием в меньшей степени, чем рост органов побега, таких как 2-ой лист. Накопление хлорофилла *a* в условиях кадмиевого стресса снижалось в большей степени, чем накопление хлорофилла *b* и каротиноидов. Дальнейшее выращивание растений кукурузы в условиях кадмиевого стресса заметно увеличивало степень подавления роста и развития растений. Например, количество листьев 34-дневных растений заметно снижалось по сравнению с контролем у растений, подвергавшихся 31 сутки стрессу.

Несмотря на то, что рост органов побега растений кукурузы замедлялся в большей степени, чем рост корней кадмий накапливался преимущественно в корнях. Нижние ярусы листьев (у 34-дневных растений) также накапливали кадмий в больших количествах, чем листья верхних ярусов.

Изучение транскрипции хлоропластных генов I и II фотосистем в зависимости от эндогенного содержания brassinosteroidов

Ковтун Ирина Сергеевна

Томский государственный университет, Томск, Россия

kovtunirina2@gmail.com

Как известно, хлоропласты имеют собственную ДНК кольцевой формы. Хлоропластный геном зеленых растений состоит примерно из 120 генов. Без участия данных генов невозможно функционирование многих систем растительной клетки. К наиболее важным жизненным процессам относится фотосинтез, часть генов, обуславливающих его протекание, входят в состав хлоропластного генома. Фитогормоны наряду со светом могут изменять экспрессию пластидных генов. Роль гормонов-антагонистов – цитокининов и АБК в регуляции транскрипции хлоропластных генов активно обсуждается. Участие brassinosteroidов в этом процессе изучено слабо.

Транскрипцию генов, кодирующих белки фотосистем I и II анализировали с помощью метода *gun-on* транскрипции, в основе которого лежит способность интактных хлоропластов в течение непродолжительного времени после их выделения осуществлять реакцию транскрипции на эндогенной ДНК с участием РНК-полимераз. Для детектирования молекул РНК, синтезированных в процессе реакции *in vitro*, вводили меченый УТФ.

Эксперимент проводили на 6-суточных проростках *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh, выращенных на белом свете. Использовали растения двух линий: родительской (Columbia) и мутантной по гену биосинтеза brassinosteroidов (*det2*). После проведения анализа радиоавтограммы результатов *gun-on* транскрипции отмечено, что у проростков дикого типа высоко транскрибировались гены D1-белка фотосистемы II (*psbA*), D2-белка фотосистемы II (*psbD*), средняя активность транскрипции наблюдалась у гена белка A1 фотосистемы I (*psaA*). Гены белка A2 фотосистемы I (*psaB*) и K полипептида фотосистемы II (*psbK*) можно отнести к слабо транскрибируемым генам у проростков *Arabidopsis thaliana* на ранних этапах онтогенеза. Нарушение синтеза brassinosteroidов приводило к активации транскрипции пластидных генов, достоверное увеличение активности показано для гена второй фотосистемы - *psbA*.

Таким образом, нами проанализирована транскрипция некоторых генов, кодирующих белковые компоненты фотосистем I (*psaA*, *psaB*) и II (*psbA*, *psbD*, *psbK*). Показана дифференциальная интенсивность транскрипции для анализируемых генов в исходном экотипе *Arabidopsis*. Впервые отмечено, что нарушение синтеза brassinosteroidов приводит к увеличению активности транскрипции генов, кодирующих белки фотосистем.

Автор выражает благодарность заведующему лаборатории экспрессии генома ИФР РАН, профессору Кузнецову Виктору Васильевичу. Исследования частично поддержаны Российским фондом фундаментальных исследований.

Функциональная идентификация Cl^-/H^+ антипортера в мембранной фракции, выделенной из клеток корня *Nicotiana tabacum* L.

**Козунова Елена Константиновна^{1,2}, Орлова Юлия Викторовна²,
Халилова Людмила Абдулгалиевна²**

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
биологический факультет, Москва, Россия

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки институт физиологии растений
им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия
stralend@mail.ru

Функционирование Cl^-/H^+ антипортеров показано во многих исследованиях, выполненных на животных и бактериях. Сведений о таких белках у растений очень мало. Целью настоящей работы являлась функциональная идентификация Cl^-/H^+ антипортера и анализ осуществляемого им Cl^-/H^+ обмена у *Nicotiana tabacum* L. Исследование было проведено на мембранных фракциях, выделенных из корней табака двумя методами: в ступенчатом градиенте плотности сахарозы и методом разделения мембран в водной двухфазной полимерной системе. Анализ активностей маркерных ферментов в мембранной фракции, выделенной в двухфазной системе, показал, что данная фракция обогащена везикулами плазмалеммы и аппарата Гольджи. ΔpCl -зависимый перенос протона через мембрану регистрировали по изменению дифференциальной абсорбции ($\Delta\text{A}492\text{-}540$) ΔpH -индикатора акридинового оранжевого (АО), а генерацию отрицательного трансмембранного электрического потенциала ($\Delta\psi$), сопровождающего Cl^-/H^+ обмен, по изменению дифференциальной абсорбции ($\Delta\text{A}554\text{-}524$) $\Delta\psi$ -индикатора сафранина О. При создании на мембране ΔpCl , направленного внутрь везикул, наблюдали выход протона из везикул, т.е. происходило защелачивание везикулярного люмена, которое сопровождалось генерацией электрического потенциала со знаком «минус» внутри везикул. Эти данные указывают на существование в мембране Cl^-/H^+ -антипортера. ΔpCl -зависимый выход протона из везикул был обнаружен у всех растений *Nicotiana tabacum*, независимо от того, содержался NaCl в среде культивирования или нет. Однако, активность Cl^-/H^+ -антипортера была выше у растений, выращенных в присутствии 50 mM NaCl, чем у растений, выращенных на незасоленной среде. Таким образом, наличие Cl^-/H^+ -антипортера в мембранной фракции, выделенной из корней табака, является конститутивным признаком, однако NaCl в среде культивирования повышает их активность. Поскольку анионно-протонные антипортеры не обнаружены у растений в плазматической мембране, высока вероятность того, что наблюдаемый нами Cl^-/H^+ обмен относится к аппарату Гольджи. Мы предполагаем, что аппарат Гольджи участвует во внутриклеточном транспорте хлорида.

Влияние ионов кадмия на активность защитных ферментов проростков сои

Конотоп Евгения Александровна

УНЦ «Институт биологии», Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко,
Киев, Украина

golovatyuk.yevgeniya@gmail.com

Кадмий является одним из наиболее токсичных тяжелых металлов. Его фитотоксичность заключается в связывании сульфгидрильных групп белков и нарушении их структуры. В ответ на поступление ионов кадмия в клетку происходит активация различных систем защиты, направленных на поддержание гомеостаза. Многие из этих механизмов являются неспецифическими и являются звеньями единой программы ответа клетки на стресс. В последнее время появились данные свидетельствующие о вовлечении ферментов хитиназы, которые традиционно относятся к патоген-индуцируемым белкам, в защитные реакции растений, вызванные ионами тяжелых металлов.

Целью данной работы было изучение влияния ионов кадмия на активность защитных ферментов сои, *Glycine max* (L.) Merr. Прорастающие семена сои подвергали воздействию

кадмия в концентрации 50 мг/л в течении 48 ч, контрольные растения выращивали на сбалансированной среде Гельригеля. В условиях опыта наблюдали угнетение роста корней и накопление в их тканях ионов кадмия – 250 мкг Cd/г сухого вещества. Избыток кадмия в питательной среде вызывал образование в корнях сои ТБК-активных продуктов, что сопровождалось повышенной активностью фермента антиоксидантной защиты – каталазы. Для определения хитиназной активности экстракты белков корней сои были разделены методом электрофореза в полиакриламидном геле в денатурирующих и нативных условиях. Всего было идентифицировано, по меньшей мере, 6 изоформ хитиназы, активность которых зависела от условий опыта, что свидетельствует об активации защитных механизмов растения. Наблюдали повышение активности изоформ с молекулярной массой ~36,5 kDa, а изоформы ~25 и 30 kDa под действием ионов кадмия были вновь синтезированы. Кроме того, активность некоторых идентифицированных кислых и щелочных изоформ возрастала в присутствии кадмия, что указывает на их металл-специфические свойства.

Таким образом, действие кадмия на проростки сои проявилось в угнетении роста корней и интенсификации перекисного окисления липидов мембран, а ответная реакция растений на такое влияние заключалась в активации каталазы, возрастании активности хитиназы и изменении ее фракционного состава.

Автор выражает признательность д.б.н., профессору Таран Н.Ю. и PhD Матушиковой И. за помощь в подготовке тезисов.

Получение асептической культуры ивы белой с использованием одноузловых стеблевых эксплантов

Константинов Андрей Вячеславович, Кулагин Дмитрий Валерьевич

Институт леса НАНБ, Гомель, Республика Беларусь

avkonstantinof@mail.ru

Ива белая (*Salix alba* L.) – быстрорастущее древесное растение, имеющее широкий спектр применения: создание топливно-энергетических плантаций, декоративное озеленение и пр. Целью нашей работы было получение асептической культуры ивы белой. В качестве эксплантов использовали фрагменты не одревесневших однолетних побегов длиной 1–1,5 см, включающие 1–2 узла. Количество исходных эксплантов в каждом варианте составляло 40 шт. Материал промывали бытовым моющим средством «AOS». Стерилизацию проводили по схеме: в 12% растворе H_2O_2 – 10 мин., 70% этиловый спирт – 1 мин., промывание стерильной дистиллированной водой, 0,1% раствор $HgCl_2$ трехкратное промывание стерильной дистиллированной водой. После подсушивания на фильтровальной бумаге экспланты переносили на питательные среды. Применяли питательные среды MS и MS с половиной концентрацией макросолей (1/2 MS), дополненные 6-БАП и ИМК в концентрациях $0,5 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ и $0,1 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ соответственно, а также сахарозой ($30 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$) и желирующим агентом (агар) в концентрации $7 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$. Кислотность (pH) – 5,6–5,8.

Жизнеспособность эксплантов составила 100%, развитие побегов наблюдалось во всех вариантах культивирования. В течение 2 недель была выявлена бактериальная инфекция. Через 3 недели культивирования отделяли развившиеся побеги и переносили их на аналогичные среды, но с добавлением цефотаксима в концентрации: $300 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$. Средняя длина побегов после 8 недель культивирования составляла 9 мм, а на среде 1/2 MS отмечалось несколько более сильное кущение. Микроклональные растения по 4–6 шт. переносили в сосуды объемом 250 мл на питательные среды без добавления экзогенных регуляторов роста для последующего культивирования, в ходе которого отмечали интенсивное корнеобразование и рост побегов в длину, коэффициент размножения после 2 месяцев культивирования был равен 6–7.

В результате работы нами разработана система стерилизации однолетних побегов ивы белой (жизнеспособность 100%, микробное заражение не более 22%). Подобраны условия культивирования асептической культуры, позволяющей проводить микроклональное размножение. Была получена активно пролиферирующая культура *Salix alba* L.

Влияние полиаминов на компоненты антиоксидантной системы растений

Thellungiella salsuginea

Королькова Диана Валерьевна, Сошинкова Татьяна Николаевна

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия

korolkova_d_v@mail.ru

Полиамины (ПА) путресцинового ряда (путресцин (Пут), спермин (Спм), спермидин (Спд)) – универсальные метаболиты, модулирующие стресс-зависимую экспрессию генов компонентов антиоксидантной защитной системы, а также сами проявляющие антиоксидантные свойства. В ряде работ показано, что повышение в клетках эндогенного уровня ПА при стрессе сопровождается увеличением активности антиоксидантных ферментов, снижением содержания супероксид радикала и пероксида водорода. Однако до сих пор нет однозначного ответа на вопрос как искусственное повышение внутриклеточного содержания ПА влияет на функционирование составляющих антиоксидантной системы. В данной работе исследовано влияние экзогенных ПА на внутриклеточное содержание ПА, активность полиаминоксидазы (ПАО) и аскорбатпероксидазы (АПО) в растениях *Thellungiella salsuginea*. Согласно полученным данным при добавлении в среду культивирования 2мМ Спм и 2мМ Спд их содержание в листьях увеличивалось через 24 часа, достигая своего максимума к 36 часам эксперимента. В этот же временной период наблюдалось повышение активности ПАО – фермента деградации ПА. Этот факт может свидетельствовать о повышенной концентрации ПА в клетках растений. При действии Спм и Спд уровень активности АПО до 36 часов был ниже уровня контроля, затем незначительно превысил контрольное значение. Несмотря на подобную динамику, экзогенные ПА уже через 12 часов вызывали повышение экспрессии генов, кодирующих изоформы АПО – APX1, локализованной в цитозоле и APX4, локализованной в тилакоидах. Таким образом, добавление экзогенных ПА в питательную среду растений вызывает повышение их содержания в листьях и индуцирует окисление их ПАО. Можно предположить, что продукты деградации ПА, образующиеся в первую очередь в корнях, поступают в листья и вызывают ранние транзиторные изменения в экспрессии исследуемых генов. Наряду с этим, часть пула экзогенных ПА транспортируется из корней в листья и уже в этом органе вызывает изменения в активности АПО в более поздние часы эксперимента.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ и гранта № 11-04-0135-a

Сезонные изменения суммарных белков и дегидринов тканей центрально-якутской и южно-якутской (алданской) популяции березы плосколистной (*Betula platyphylla* Sukacz)

Ксенофонтова Туяара Ивановна

«Северо – Восточный Федеральный Университет»,

Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск, Россия

ksentyiv@mail.ru

В процессах низкотемпературной адаптации растений ведущую роль выполняют стрессовые белки – дегидрины, ответственные за механизм защиты от обезвоживания при низких температурах. Предполагается, что они увеличивают способность клетки выдерживать экстремальные рН и осмотический стресс, способствуют сольватации и защите макромолекул и клеточных структур в период дегидратации. Центральная Якутия характеризуется средней температурой января -43°C, Южная Якутия (Алдан) -28 °C. К наиболее морозоустойчивым видам лиственных пород Якутии относят березу плосколистную (*Betula platyphylla* Sukacz).

Электрофорез в 12,5% полиакриламиде (ПААГ) проводили по Лэммли в приборе Mini-PROTEAN фирмы BIO-RAD (США). Окрашивали гели 0.1% Кумасси R-250 (“Sigma”, США). Определение молекулярных масс полипептидов проводят, используя в качестве стандартов набор белков («Fermentas», Литва). Идентификацию дегидринов выполняли с помощью поликлональных антител против их консервативного К- сегмента в разведении 1:500 («Agrisera», Швеция).

На сравнительной электрофореграмме суммарных белков ксилемы березы плосколистной в ходе годового цикла, во время вегетации (июнь, июль) отмечается значительно преобладание средне- и высокомолекулярных полипептидов, которые вероятно, связаны с ростом и развитием растений. Зимой (с конца сентября до конца мая) - в период покоя растений в белковом спектре доминируют низко- и среднемолекулярные полипептиды. Они появляются в конце вегетационного периода (август), и их белковый состав коры и ксилемы сохранялся на постоянном уровне во время покоя растений. В ходе годового цикла в электрофоретическом спектре суммарных белков тканей березы плосколистной в летний период преобладают средне- и высокомолекулярные, а в зимний период покоя растений – низко- и среднемолекулярные полипептиды. Методом иммунодетекции установлено, что среднемолекулярные и низкомолекулярные дегидрины в тканях коры и ксилемы березы плосколистной выявляются круглогодично со стабильно высоким содержанием во время покоя растений в зимний период.

Устойчивость пигментного аппарата проростков тимopheевки луговой (*Phleum pratense* L.) к воздействию хлорида кадмия

Мальцева Елена Юрьевна

*Балтийский федеральный университет им. И.Канта, г. Калининград, Россия
lenokmalec@rambler.ru*

Среди неорганических загрязнителей окружающей среды одними из наиболее токсичных являются тяжелые металлы. Целью работы явилось изучение влияния кадмия различной концентрации (от 0,05 до 500 мкмоль/л) на устойчивость желтых и зеленых пигментов в проростках тимopheевки луговой.

В качестве объекта исследования использовали растение семейства злаковые (*Poaceae* Barnh.) тимopheевку луговую (*Phleum pratense* L.). Семена растений проращивали в чашках Петри с различной концентрацией раствора хлорида кадмия (0,05; 0,5; 5; 50; 100; 250; 400; 500 мкмоль/л). В качестве контроля были выбраны растения, выращенные на бидистиллированной воде. В работе использовали кадмий хлористый ч.д.а. ГОСТ 4330-76. Количественное определение проводилось на спектрофотометре СФ-2000.

Как показали исследования по изучению влияния различных концентраций кадмия (от 0,05 до 250 мкмоль/л) на уровень желтых и зеленых пигментов в проростках тимopheевки луговой, уровень каротиноидов и хлорофиллов практически не изменялся при увеличении концентрации тяжелого металла. Уровень каротиноидов находился в пределах 0,19-0,22 мг/г (контроль – 0,19 г/г), хлорофилла *a* – 0,61-0,72 мг/г (контроль – 0,65 мг/г), хлорофилла *b* – 0,24-0,30 мг/г (контроль – 0,24 мг/г). Более высокие концентрации кадмия (400-500 мкмоль/л) настолько сильно ингибировали рост растений, что это не позволило взять необходимую для проведения анализа навеску. Таким образом, в ходе работы было установлено, что уровень хлорофиллов и каротиноидов не менялся в присутствии растворов кадмия от 0,05 до 250 мкмоль/л.

Действие ионов никеля на прорастание пыльцы табака

Мамаева Анна Станиславовна

*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
биологический факультет, Москва, Россия
AnnetteSt@yandex.ru*

Никель - необходимый для растений микроэлемент, однако в больших концентрациях он токсичен. Роль никеля в растении и механизмы его токсического действия практически не изучены. В данной работе прорастающая пыльца использована в качестве модели для выявления закономерностей действия никеля на поляризацию клетки и полярный рост.

Пыльцу *Nicotiana tabacum* L. культивировали в жидкой питательной среде, содержащей нитрат никеля в концентрациях от 100 до 1000 мкМ. Жизнеспособность

пыльцевых зёрен, содержание в них активных форм кислорода (АФК), распределение каллозы и движение митохондрий в пыльцевой трубке изучали с помощью флуоресцентной микроскопии; интенсивность поглощения кислорода исследовали полярографическим методом.

Никель блокировал прорастание пыльцевых зёрен, однако они оставались жизнеспособными и активировались, о чём свидетельствуют данные измерения поглощения кислорода. Содержание АФК в клетках оставалось на уровне контрольных проб. Выявлено разнонаправленное действие никеля на рост пыльцевых трубок: рост коротких трубок он ингибировал, длинных - стимулировал. При этом в длинных трубках и части коротких сохранялось неизменным движение органелл. Ингибирование роста коротких трубок сопровождалось отложением каллозы в апексах. В апексах длинных трубок, как и в контрольных пробах, каллоза отсутствовала.

Таким образом, изучение отдельных этапов прорастания пыльцы показало, что значимое действие никеля (стимуляция или ингибирование) выявляется после завершения активации пыльцы и инициации её прорастания. Обнаруженные аномальные отложения каллозы в апексах коротких трубок свидетельствуют о том, что никель нарушает процесс формирования клеточной стенки.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 11-04-00605.

Содержание катехинов в лекарственных растениях Ботанического сада

БФУ им. И. Канта (г. Калининград)

Масленников Павел Владимирович

Балтийский федеральный университет им. И. Канта, Калининград, Россия

pashamaslennikov@mail.ru

Лекарственные растения составляют особую группу объектов исследования – благодаря высокой биологической активности, с одной стороны, и практической не изученности накопления в них низкомолекулярных антиоксидантов, с другой. Содержание флавоноидов в растительном сырье является важнейшим показателем его биологической ценности. Флавоноидсодержащие растения представляют собой единственный источник сырья для получения Р-витаминных препаратов, обладающих антиоксидантными свойствами. Так, например, в фармацевтической практике широко используются катехины из листьев чая, гесперидин – из отходов цитрусовых, рутин из гречихи. Большое значение имеют флавоноиды в мясо-консервной промышленности. Исследовалось содержание катехинов в листьях 67 видов лекарственных растений, произрастающих в Ботаническом саду БФУ им. И. Канта. Количественное определение флаван-3-олов проводилось спектрофотометрически. В результате проведенной работы было установлено, что наибольшее количество катехинов было найдено (в порядке уменьшения количества) в листьях ревеня дланевидного (*Rheum palmatum*), переступня двудомного (*Bryonica dioica*), зверобоя обыкновенного (*Hypericum perforatum*), родиолы розовой (*Rhodiola rosea*), расторопши пятнистой (*Silybum marianum*). Содержание катехинов в этих растениях составило 1421-5392 мг%. Из 5 видов лекарственных растений с максимальным содержанием флаван-3-олов, 3 вида входили в семейство астровые (*Asteraceae*) и по два вида представлены семейства губоцветные (*Lamiaceae*) и лютиковые (*Ranunculaceae*). Достаточно высоким содержанием катехинов отличались листья очитка большого, пустырника пятилопастного, вероники длиннолистной, василистника желтого, полыни горькой, василистника водосборолистного, козлятника аптечного, шалфея лекарственного, мыльнянки лекарственной, окопника лекарственного, эхинацеи пурпурной, дудника лекарственного, дурмана обыкновенного, лука поникающего, девясила высокого. Эти растения оказались способными накапливать в своих листьях флаван-3-олы в концентрации от 310 до 637 мг%. Для остальных исследованных видов лекарственных растений, которых оказалось несравнимо больше (46), средние уровни накопления катехинов были значительно ниже 300 мг%. Сравнительный анализ содержания катехинов в лекарственных растениях позволил выявить

виды с высоким их содержанием, которые можно рекомендовать для сбора в качестве источников природных антиоксидантов.

Эндогенные факторы перекрестной совместимости сортов яблони

Молодцов Максим Андреевич, Козлов Николай Евгеньевич

ФГБОУ ВПО Мичуринский государственный аграрный университет, Мичуринск, Россия

phlorizin@gmail.com

Известно, что сорта плодовых культур зачастую проявляют несовместимость, как при самоопылении, так и при перекрестном опылении. Цитологическими методами было показано, что основной причиной несовместимости при опылении растений являются нарушения в прогамной фазе оплодотворения. Однако внутренние биохимические факторы, по которым можно было бы предвидеть совместимость между сортами, при опылении плодовых культур, практически не изучались.

Наша работа включала в себя полевые опыты по опылению и лабораторный анализ генеративных тканей сортов яблони на количественное содержание флавоноидов. Материалом для исследований служили пыльца и пестики различных сортов яблони.

При исследовании завязываемости плодов у яблони нами найдено, что склонность ее сортов к совместимости или несовместимости при опылении связана с количественным содержанием в пыльце сорта опылителя флавонолов и количественным содержанием в пестиках (столбиках) опыляемого сорта полифенола флоризина. Так при опылении исследованных сортов наибольший процент завязывания плодов происходит от пыльцы имеющей наибольшее содержание флавонолов. Если же опылителями являются сорта с низким содержанием флавонолов, то и процент завязывания плодов является минимальным. Процент завязывания плодов от сортов опылителей и самоопыления закономерно уменьшается с увеличением содержания флоризина в основаниях столбиков цветков опыляемых сортов. Совместимость между сортами яблони при опылении прямо пропорциональна проценту содержания водорастворимых веществ и флавонолов в пыльце сорта опылителя и обратно пропорциональна проценту содержания флоризина в столбиках опыляемого сорта. Таким образом, разным содержанием флавоноидов в генеративных тканях цветка яблони можно объяснить начальные этапы несовместимости сортов при опылении и особенно прогамной фазы оплодотворения.

Предложенная в данном сообщении концепция генеративной роли природных полифенольных соединений, содержащихся в пыльце и пестиках яблони может способствовать дальнейшему развитию теории половой репродукции растений, а также совершенствованию подбора сортов плодовых культур для совместных насаждений интенсивного типа.

Влияние различных режимов низкоинтенсивного электромагнитного излучения на накопление отдельных вторичных метаболитов у отдельных кормовых и лекарственных растений

Пазухин Сергей Александрович, Сидлеронок Александр Владимирович

*Белорусский государственный педагогический университет имени М.Танка,
факультет естествознания, Минск, Республика Беларусь*

cheewist@yandex.ru

Механизм низкоинтенсивного воздействия миллиметровых волн на биологические объекты изучен слабо. В настоящее время известно, что существует связь между низкоинтенсивными электромагнитными сверхвысокочастотными полями и функциональным проявлением ферментных структур. Строгой научной теории, объясняющей физико-биохимические и физиологические механизмы взаимодействия биологических объектов с электромагнитными волнами низкой интенсивности, не существует в настоящее время.

Материалом исследования послужила зелёная масса (листья верхнего яруса) валерианы лекарственной (*Valeriana officinalis*) сорта Маун, ромашки лекарственной (*Matricaria recutita*),

галеги восточной (*Galega orientalis* Lam.) и пажитника греческого (*Trigonélla foenum-graecum*). Семена исследуемых культур были обработаны низкоинтенсивным микроволновым излучением в различных частотных режимах: Режим 1 (частота обработки 53,57–78,33 ГГц, время обработки 20 минут); Режим 2 (частота обработки 64,0–66,0 ГГц, время воздействия 12 минут) и Режим 3 (частота обработки 64,0 –66,0 ГГц, время обработки 8 минут) в Институте ядерных проблем БГУ. Контролем служили листья растений, выращенных из необработанных семян. Провели определение содержания суммы фенольных соединений по методу Фолина-Чокальтеу. При исследовании получены следующие результаты. У галеги восточной в контрольных образцах и образцах, обработанных Режимами 1 и 2, различия в накоплении фенольных соединений статистически недостоверны. Режим 3 оказал отрицательное влияние на содержание фенольных соединений. У пажитника греческого Режим 1 не оказал существенного влияния на содержание фенольных соединений. Тогда как, при обработке Режимом 2, накопление фенолов резко повысилось. Режим 3 оказал угнетающее воздействие. У валерианы лекарственной результаты измерений аналогичны таковым для пажитника греческого. Таким образом, с помощью электромагнитной обработки можно регулировать процессы метаболизма у кормовых и лекарственных культур. Повышая синтез и накопление вторичных метаболитов, можно повысить их устойчивость к неблагоприятным воздействиям.

Содержание амарантина в листьях представителей рода *Amaranthus* L., произрастающих в условиях Центральной Якутии

Поскачина Елена Рудольфовна, Воронов Иван Васильевич

*Институт биологических проблем криолитозоны Сибирского отделения РАН, Якутск, Россия
poskachinalena @ yandex.ru*

Якутия относится к территориям рискованного земледелия с коротким летом, обеднёнными и засолено-зашелоченными почвами, с высокой среднегодовой амплитудой колебания температур и влиянием многолетней мерзлоты. Для преодоления недостатка кормовой базы (зелёной массы, сена и силоса) в сельском хозяйстве необходимо введение в культуру растений, богатых высоким содержанием белков, жиров и углеводов, имеющих короткий вегетационный период и высокую продуктивность. Таковыми являются растения семейства *Amaranthus* L., как культурные, так и дикорастущие. Среди многочисленных представителей сем. *Amaranthaceae*, особый интерес вызывает *A. retroflexus*, химический состав которого изучен недостаточно. Немаловажным в исследовании некоторых видов рода *Amaranthus* остаётся вопрос содержания амарантина в органах этих растений. Амарантин ($C_{29}H_{31}O_{19}$) относится к алкалоидам – беталаинам, является естественным антиоксидантом, ингибирующим развитие свободнорадикальных состояний, состоит из агликона бетанидина и углеводной части, имеет красно-фиолетовый цвет. Амарантин принимает участие в окислительно-восстановительных реакциях фотосинтеза. Интерес к амарантину возник благодаря тому, что он является водорастворимым антиоксидантом, тогда как большинство антиоксидантов (токоферол, убихинон, каротиноиды) не растворимы в воде, что затрудняет их использование. Эксперимент проводили на листьях амаранта сортов «Чергинский», «Янтарь» и местного вида амаранта – щирицы запрокинутой. Проведенные исследования по содержанию амарантина в листьях позволило выявить наиболее богатые этим антиоксидантом растения. Установлено, что наибольшее количество амарантина было обнаружено в листьях сорта «Чергинский» ($0,73 \pm 0,01$) и *A. retroflexus* ($0,74 \pm 0,01$ мг/г_{сух.тк.}). Содержание амарантина в листьях сорта «Янтарь», по сравнению с остальными видами, была низкой и составила $0,48 \pm 0,01$ мг/г_{сух.тк.}. Таким образом, проведенные исследования содержания амарантина в листьях у опытных растений показали, что местный дикорастущий вид (щирица запрокинутая – *Amaranthus retroflexus* L.) рода *Amaranthus* может конкурировать с сортами амаранта, рекомендованными для возделывания в Сибири.

Авторы выражают благодарность руководителю д.б.н., профессору Журавской А.Н.

Изменение экспрессии генов транскрипционных факторов *CBF1* и *DREB1* в листьях проростков пшеницы при действии кадмия

Репкина Наталья Сергеевна

Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск, Россия

nrt9@yandex.ru

Транскрипционные факторы, в том числе *CBF1* и *DREB1*, играют важную роль в активации генов и синтезе стрессовых белков у растений под влиянием различных стресс-факторов. В настоящее время известно, что гены *CBF1* и *DREB1* участвуют в процессах адаптации растений к холоду и засухе, однако сведения об их экспрессии в условиях действия тяжелых металлов отсутствуют. Целью нашей работы явилось исследование влияния кадмия на экспрессию генов транскрипционных факторов *CBF1* и *DREB1* у проростков пшеницы.

Эксперименты проводили с проростками озимой пшеницы с. Московская 39, которые подвергали действию сульфата кадмия (100 мкМ) в течение 7 сут. Реакцию растений на действие кадмия оценивали по изменению ростовых параметров, содержание кадмия в листьях – методом инверсионной вольтамперометрии. Уровень экспрессии генов в листьях анализировали методом ПЦР в режиме реального времени.

Исследования показали, что кадмий (100 мкМ) отрицательно влияет на рост проростков пшеницы, хотя их видимого повреждения при этом не вызывает. В первые 5 ч воздействия кадмия на корни проростков его содержание в листьях практически не увеличивалось, но через 1 сут резко возрастало, продолжая повышаться в течение всего опыта (7 сут). В отличие от этого, уровень экспрессии генов *CBF1* и *DREB1* существенно увеличивался уже через 15 мин воздействия кадмия на проростки и достигал максимума через 1 ч. В дальнейшем (через 5 ч) экспрессия гена *DREB1* несколько снижалась, но оставалась на повышенном уровне до конца эксперимента (7 сут). Содержание транскриптов гена *CBF1* снижалось через 5–48 ч воздействия кадмия, а затем вновь возрастало и сохранялось на достигнутом уровне (3–7 сут).

Таким образом, можно заключить, что возрастание уровня экспрессии генов транскрипционных факторов *CBF1* и *DREB1* можно рассматривать как свидетельство их участия в неспецифических защитно-приспособительных реакциях растений пшеницы на действие ионов кадмия.

Строение присемянников и семян *Euonymus europaeus* L. (Celastraceae)

и состав их жирных масел в ходе созревания плодов

Сидоров Роман Александрович¹, Трусов Николай Александрович^{1,2}

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия, *roman.sidorov@mail.ru*

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН, Москва, Россия, *n-trusov@mail.ru*

Известно, что плоды *Euonymus* L. (Celastraceae R. Br.), как в присемянниках, так и в семенах (в эндосперме и зародыше), запасают жирные масла, резко различающиеся по составу — масло присемянников состоит преимущественно из триацилглицеринов (ТАГ) обычного состава, а в масле семян преобладают ацетилированные диацилглицерины (*ac*ДАГ), однако данные об их накоплении при созревании плодов отсутствуют. Плоды *E. europaeus* L. собирали на стадиях глобулярного зародыша (I), зрелого вскрывшегося плода (III) и между этими сроками, когда зародыш был вполне сформирован (II). Анатомическое строение семян и присемянников исследовали методами световой микроскопии, а состав их жирных масел определяли с помощью ГЖХ-МС. В процессе созревания плода, в семени формируется обильный эндосперм и зародыш с хорошо развитыми семядолями; присемянник становится двухслойным, вследствие разрушения клеток паренхимы, подстилающей эпидерму. Жировые включения (ЖВ) в клетках эндосперма и зародыша на всех сроках остаются одинаково мелкими, а в клетках присемянника, наряду с мелкими ЖВ, появляются крупные. Количество ЖВ в процессе созревания увеличивается. Накопление ТАГ в присемянниках и *ac*ДАГ в семенах носило экспоненциальный характер. Их содержание в ходе созревания возрастало от

440.0 до 1470.0 мкг/присемянник и от 201.5 до 1160 мкг/семя. Главными жирными кислотами (ЖК) ТАГ на всех стадиях созревания были пальмитиновая (П, 23.0–23.9% от суммы ЖК), *цис*-8-гексадеценовая (8-16:1, 3.9–7.6%), олеиновая (О, 7.2–17.8%), и линолевая (Л, 42.0–43.7%); также содержались пальмитолеиновая (По, 2.4–3.8%), стеариновая (С, 1.7–2.3%), *цис*-10-октадеценовая (10-18:1, 1.6–3.2%), *цис*-вакценовая (В, 3.2–4.6%) и α -линоленовая (Ле, 2.3–4.7%) кислоты. АцДАГ содержали П (22.4–22.6%), С (2.0–2.9%), О (23.7–43.8%), В (1.1–1.3%), Л (22.4–24.6%) и Ле (9.3–25.5%). В ходе созревания индекс ненасыщенности ЖК в обоих случаях снижался – с 1.23 до 1.15 и с 1.47 до 0.95, соотв. Таким образом, ЖВ присемянников и семян обнаруживают резкие различия, как в морфологии, так и в качественном и количественном составе жирных масел на всех изученных стадиях развития плода.

Вызванная электрическими сигналами обратимая инактивация фотосинтеза герани (*Pelargonium zonale* L.)

Сурова Любовь Михайловна

Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского,

Нижний Новгород, Росси, lyubovsurova@mail.ru

Под действием внешних факторов в растениях происходит генерация и распространение электрических сигналов (ЭС), которые могут влиять на многие физиологические процессы, в том числе на фотосинтез. Целью работы является исследование механизмов ответов фотосинтеза у высших растений, вызванных ЭС, на примере герани.

Эксперименты проводились на интактных растениях герани (*Pelargonium zonale* L.). Параметры световой стадии исследовались с использованием РАМ-флуориметра Dual-РАМ-100; параметры темновой стадии – с применением газоанализатора GFS-3000; регистрация электрической активности – с помощью макроэлектродов и высокоомного милливольтметра ИПЛ-113.

Показано, что ожог одного листа индуцирует ЭС, проходящие в черешок другого листа и, в большинстве случаев, в его листовую пластинку. При распространении ЭС в листовую пластинку, в ней наблюдалось угнетение фотосинтеза. Оно проявлялось в снижении квантового выхода фотосистем I и II, фотохимического тушения и ассимиляции CO₂, при одновременном возрастании нефотохимического тушения и потерь, связанных с донорной и акцепторной стороной фотосистемы I. Если ЭС не проходил в пластинку измеряемого листа, ответ фотосинтеза не наблюдался. При низкой концентрации CO₂ и отсутствии актиничного света наблюдалось снижение величины изменения всех параметров за исключением роста потерь, связанных с акцепторной стороной фотосистемы I. В условиях дальнего красного света, ЭС вызывали снижение потерь, связанных с донорной стороной фотосистемы I, в то время как изменения остальных параметров сохраняли свою направленность.

Результаты показывают, что ЭС могут вызывать обратимую инактивацию фотосинтеза. Она связана, по-видимому, с двумя механизмами. Во-первых, со снижением активности ферментов цикла Кальвина, приводящим к уменьшению эффективности транспорта электронов в тилакоидной мембране и росту нефотохимических потерь. Во-вторых, с ростом потерь на акцепторной стороне фотосистемы I, которые, вероятно, связаны с инактивацией ферредоксин-НАДФ-редуктазы.

Работа поддержана грантом Президента Российской Федерации для поддержки молодых российских ученых (МК-1869.2012.4).

Изучение фитостимулирующего действия фенолов различных классов

Федураев Павел Владимирович

Балтийский Федеральный Университет им. И. Канта, Калининград, Россия

pavelf15@mail.ru

Ни один класс природных веществ не оказывает такого многочисленного и разнообразного воздействия на биологическую активность, как фенольные соединения. Для

подбора оптимальной концентрации веществ выбранных в качестве фитостимуляторов, имеющих фенольную природу, был проведен опыт по изучению влияния данных классов веществ на прорастание семян Клевера лугового (*Trifolium pratense* L.). Для изучения влияния фитостимуляторов на биосинтез вторичных метаболитов, использовались листья.

Растения были разделены на четыре группы: 1) контроль (поливались дистиллированной водой); 2) поливались слабо спиртовым раствором галловой кислоты; 3) поливались раствором гидроксикоричной кислоты; 4) поливались слабо щелочным раствором кверцетина. Анализ растений производили на 20-й и 30-й день после всходов. В растениях определялись антоцианы, лейкоантоцианы, катехины и сумма фенольных соединений. В результате проведенных исследований было установлено, что оптимальной концентрацией галловой кислоты для растений клевера лугового является 10^{-10} моль/л, оптимальная концентрация кверцетина составила 10^{-8} моль/л, а оптимальная концентрация гидроксикоричной кислоты так же составила 10^{-8} моль/л. Исследование показали, что растения, обрабатываемые раствором кверцетина и гидроксикоричной кислоты, содержали большее количество антоцианов, по сравнению с контролем, в то время как у растений обрабатываемых галловой кислотой уровень антоцианов ниже по сравнению с контролем. Достоверных различий в содержании лейкоантоцианов в растениях всех вариантов выявлено не было. Было установлено, что уровень катехинов в растениях обработанных фитостимуляторами достоверно выше контроля. Показано, что растения обработанные опытными растворами содержали достоверно большее количество водорастворимых фенолов по сравнению с контрольными образцами. В результате проведенных исследований было установлено, что галловая кислота и гидроксикоричная кислота положительно влияют на накопление биомассы, в то время как растения обрабатываемые раствором кверцетина не показали достоверных различий по сравнению с контролем. Была выявлена связь между уровнем полифенолов и веществами используемых в качестве фитостимуляторов.

Влияние жасминовой кислоты на две линии культуры клеток женьшеня

Ханды Мария Тереньтьевна¹, Овсиенко Максим Валентинович²,

Кочкин Дмитрий Владимирович²

¹Северо-Восточный федеральный университет им. М.К.Аммосова, биолого-географический факультет, Якутск, Россия, e-mail: handy_89@mail.ru

²МГУ имени М.В.Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия

Практический интерес к культуре клеток высших растений в большой степени определен способностью культивируемых клеток к биосинтезу многих вторичных метаболитов. Положительные результаты при регулировании синтеза вторичных метаболитов в растительных клетках может дать применение элиситоров, например, жасминовой кислоты (jasmonic acid) – стрессового фитогормона высших растений. В настоящей работе изучено влияние жасминовой кислоты на рост и образование гинзенозидов в суспензионных культурах клеток женьшеня настоящего *Panax ginseng* C. A. Mey (штамм PgL1) и японского *Panax japonicus* C. A. Mey. var. *repens* Maxim (линия №62).

Жасминовую кислоту в концентрации 100 мкМ добавляли в среду культивирования клеток линии PgL1 на 14 сутки культивирования, а клеток линии №62 – 7 и 14 сутки. В течение эксперимента определяли: сухой и сырой вес биомассы, число клеток в 1 мл суспензии и жизнеспособность. Анализ гинзенозидов в биомассе штамма №62 проводили методами ТСХ и ВЭЖХ.

В результате показано ингибирование роста клеток штамма №62 при добавлении жасминовой кислоты на 7 сутки культивирования, при добавлении жасмоната на 14 сутки культивирования изменений в росте по отношению к контролю не наблюдали. Рост штамма PgL1 непосредственно после добавления элиситора ингибируется, но на 3 сутки культивирования выравнивается с контролем. Добавление жасминовой кислоты на 7 сутки культивирования привело к увеличению накопления гинзенозидов в клетках штамма №62 по отношению к контролю. Увеличение содержания гинзенозидов произошло в основном за счет

образования Rg₁, Rb₁ и малонильного эфира Rb₁. В контрольном варианте Rb₁ на протяжении всего цикла выращивания был представлен исключительно в виде эфира с малоновой кислотой (малонил-Rb₁). Таким образом, жасминовая кислота увеличивает количественное содержание гинзенозидов в культурах клеток *Panax japonicus* var. *repens* и меняет их качественный состав (приводит к появлению нейтральных гинзенозидов Rb – группы).

Действие эпибрасинолида на содержание фотосинтетических пигментов в растениях *Brassica napus* L. в условиях засоления

Хасан Жалал Абдо Кауд

*Российский университет дружбы народов, Аграрный факультет, Москва, Россия
galal_9999@hotmail.com*

Одним из самых распространенных неблагоприятных факторов внешней среды при выращивании растений является хлоридное засоление. Засоление значительно нарушает корневое питание и водный режим, подавляет процесс фотосинтеза, совокупностью этих изменений является ингибирование ростовых процессов у растений. Фитогормоны используют для предотвращения ингибиторного эффекта, вызванного повреждающим действием соли. Широко исследуется роль цитокининов и абсцизовой кислоты в регуляции стрессовых ответов. В последнее время в качестве возможного регулятора стрессового ответа рассматривают брассиностероиды.

Нами изучено влияние одного из представителей класса брассиностероидов – эпибрасинолида (10^{-12} М, 10^{-10} и 10^{-8} М) на пигментный состав растений рапса при солевом воздействии (125 мМ NaCl). Хлоридному засолению в течение 7 дней подвергали 25 суточные растения рапса, выращенные на жидкой питательной среде Хогланда-Снайдерс.

Засоление способствовало снижению уровня всех анализируемых фотосинтетических пигментов (хлорофилла *a*, хлорофилла *b*, суммы хлорофиллов и каротиноидов) примерно на 20% относительно контроля. Эпибрасинолид в концентрации 10^{-10} М полностью предотвращал эффект, вызванный засолением. Другие концентрации гормона не оказывали протекторного эффекта. Наибольшее ингибиторное действие NaCl на содержание фотосинтетических пигментов проявлялось при самой низкой концентрации эпибрасинолида (10^{-12} М) и способствовало снижению концентрации фотосинтетических пигментов примерно на 40 % относительно контроля. Таким образом, показана дифференциальная активность различных концентраций эпибрасинолида (10^{-12} М, 10^{-10} и 10^{-8} М) относительно содержания фотосинтетических пигментов рапса в присутствии NaCl. Оптимальной концентрацией эпибрасинолида для реализации защитного действия от засоления на пигменты фотосинтеза являлась 10^{-10} М.

Влияние КВЧ-излучения на ПОЛ и антиоксидантную активность растений *Calendula officinalis*

Шии Светлана Николаевна

*Белорусский государственный университет имени М. Танка,
факультет естествознания, Минск, Беларусь
sazonovascv@mail.ru*

Актуальность изучения данной проблемы определяется существующим несоответствием физиологического качества посевного материала требованиям интенсивных технологий возделывания лекарственных культур и состоит в необходимости увеличения адаптивных свойств семян к неблагоприятным условиям. В настоящее время в практике возделывания лекарственных растений начала применяться предпосевная обработка КВЧ-излучением, позволяющая повысить агрономические качества семян. Однако при выращивании лекарственных растений важны не только эти показатели, но и качество фитосырья. Поэтому целью работы является выявление влияния КВЧ – излучения на ПОЛ и антиоксидантную активность сырья *Calendula officinalis*.

Предпосевная обработка КВЧ проводилась в различных частотных режимах: Режим 1 (частота обработки 53,57–78,33 ГГц, время обработки 20 минут); Режим 2 (частота обработки 64,0–66,0 ГГц, время обработки 12 минут) и Режим 3 (частота обработки 64,0 –66,0 ГГц, время обработки 8 минут) в НИИ «Ядерных проблем БГУ». Оценивали влияние обработки на ПОЛ и суммарную активность антиоксидантных ферментов в 7-ми и 14-ти дневных проростках календулы. В процессе исследования установлено, что при обработке режимами 1 и 2 наблюдается падение уровня ПОЛ (на 13,6 и 20,8 % соответственно), а в растениях обработанных режимом 3 уровень ПОЛ в два раза превышает контроль, что говорит о наличии большого количества свободных форм кислорода, участвующих в окислении липидов. В результате анализа антиоксидантной активности сырья это предположение подтвердилось, так как в сырье растений обработанных режимом 3 на 21,5 % понизилась антиоксидантная активность. Таким образом, после воздействия режимом 3 активизировалось ПОЛ и снижалась антиоксидантная активность сырья календулы, а при воздействии режимами 2 и 3 отмечалась обратная реакция. Значит, влияние КВЧ-излучения должно быть скорректировано по времени и диапазону воздействия, так как увеличение количества и улучшение качества сырья – это основная задача исследования.

**Функциональная и генетическая идентификация семейства *CLC* растения
галофита *Suaeda altissima***

**Шувалов Алексей Витальевич, Орлова Юлия Викторовна,
Халилова Людмила Абдулгадиевна**

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки институт физиологии
растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия
laursen1243@mail.ru*

Одним из основных механизмов, обеспечивающих устойчивость растений к NaCl, является поддержание концентраций Cl⁻ в цитоплазме клеток на нетоксическом уровне. Мы предположили, что у галофитов – растений, обитающих на засоленных почвах, в Cl⁻ гомеостатировании цитоплазмы важнейшую роль играют Cl⁻/H⁺-антипортеры — белки, относящиеся к семейству CLC. Функционирование Cl⁻/H⁺-антипортера было продемонстрировано нами ранее в клетках корня галофита *S. altissima*. Для более детального изучения функционирования данного антипортера необходимо идентифицировать нуклеотидную последовательность кодирующего его гена, что позволит, в частности, оценить его вклад в солеустойчивость, определить организменную и внутриклеточную локализацию. Настоящая работа посвящена выявлению генов семейства *CLC* и определению их нуклеотидных последовательностей *S. altissima*. Основные методы: программный и визуальный анализ нуклеотидных последовательностей (Oligo, Blast, BioEdit), ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР), молекулярное клонирование фрагментов ДНК в плазмидные векторы, 3'- и 5'- RACE (Rapid Amplification of cDNA Ends), секвенирование ДНК. Так как геном *S. altissima* не секвенирован, для выявления экспрессирующихся генов *CLC* использовали вырожденные праймеры. Праймеры были подобраны к консенсусной последовательности от выравнивания различных генов *CLC* следующих растений: *Oryza sativa*, *Nicotiana tabacum*, *Glycine max*, *Thellungiella halophita*, *Citrus trifoliata*, *Zea mays*, *Arabidopsis thaliana*, *Ricinus communis*, *Solanum tuberosum*. Используя подобранные праймеры методом ОТ-ПЦР тотальной РНК, выделенной из корней *S. altissima*, подвергнутого умеренному засолению, была амплифицирована кДНК размером ~300 п.н., анализ которой в BLASTN и BLASTX показал ее гомологию с *CLC* генами других растений. Используя полученную кДНК, выбрали специфичный прямой праймер для амплификации 3'-конца и использовали его с тотальной РНК *S. Altissima* для получения 5 достоверно различавшихся последовательностей *CLC*. Была показана высокая гомология всех полученных последовательностей с *CLC* других растений. Полученные данные указывают на экспрессию в условиях засоления в корнях *S. altissima* генов *CLC*.

Работа поддержана грантом РФФИ № 12-04-00987-а.