

Подсекция «ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ»

The effect of exogenous spermine on the functioning of antioxidant enzymes and proline metabolism in *Thellungiella salsuginea*

Korolkova Diana Valerievna, Soshinkova T.N.

K.A.Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS, Moscow, Russia

korolkova_d_v@mail.ru

Polyamines (PA) (putrescine, spermidine, spermine (SPM)) are present in all compartments and organelles in plant cells, suggesting their involvement in the fundamental processes. PA is involved in the replication, transcription, translation, membrane stabilization, modulation of enzyme activity, regulation of genome expression, cell division and elongation. However, the contribution of PA metabolism in plant adaptation to many stress factors is not fully understood. It is known that the specific mechanism of adaptation in *Thellungiella salsuginea* under stress conditions is the accumulation of proline. In this work we have studied effects of exogenous SPM on proline metabolism and functioning of the antioxidant system in *Th. salsuginea*. Plants were grown in water culture in a phytotron chamber. After 6 weeks the nutrient solution was contributed by SPM in a concentration range from 0.2 mM to 1 mM, the control plants were not treated with SPM. 1 mM SPM in the culture medium caused a decrease in proline content and increase in proline dehydrogenase activity – a key enzyme of the proline catabolism. Same rise have happened in expression of genes *P5CS1* and *IP5CD*, encoding enzymes of proline metabolism. The pattern of observed changes confirms that proline is the major component of the defense system in *Th. salsuginea*. Slight increase in antioxidant enzyme activity was observed only for catalase and peroxidase activity, SOD isoforms was not changed. The marked differential changes were observed in the levels of gene transcripts encoding isoforms of ascorbate peroxidase: increase for *APX1*, *APX4* and reduce for *APX2*. These data demonstrate that in *Th. salsuginea*, grown in normal conditions, SPM added to the growth medium did not exert a strong pro-oxidant effect on plants. However, changes in the activity of antioxidant enzymes and the production of hydrogen peroxide caused by exogenous treatment of SPM result in changes in proline metabolism.

This work was supported by RFBR 11-04-01305-a.

Исследование компонентов антиоксидантной защиты у газонных растений города Калининграда

Артеменко Анастасия Андреевна¹, Головина Е.Ю.²

¹МАОУ СОШ № 6 г. Калининград;

²Калининградский институт экономики, Калининград, Россия

art_anastasia@mail.ru

В связи ростом техногенной нагрузки на живые организмы особенно актуальным является изучение механизмов их адаптации к неблагоприятным факторам среды. Известно, что рутин и аскорбиновая кислота (АК) входят в систему защиты растений и являются антиоксидантами. Целью данной работы явилось исследование содержания АК и рутина в листьях некоторых газонных растений города Калининграда в зависимости от места произрастания. Объектами исследования служили растения — представители семейства бобовые (*Fabaceae*): клевер гибридный (*Trifolium hybridus* L.), клевер ползучий (*Trifolium repens* L.), люцерна хмелевидная (*Medicago lupulina* L.). Эти виды отличаются чувствительностью к газообразным загрязняющим атмосферный воздух веществам и по классификации Николаевского относятся к неустойчивым видам. Для исследования были заложены 32 пробные площадки в разных районах г. Калининграда, отличающихся по степени загрязнения почвогрунтов и воздуха. В качестве контроля пробы отбирались в Национальном парке "Куршская коса" в районе пос. Рыбачий. Содержание АК и рутин определяли методом титрования. Исследования проводились в течение 2010–2011 гг. Полученные данные обработаны статистически методом парных сравнений и представлены в виде средних арифметических значений. Обнаружено, что суммарное содержание АК и рутин в листьях газонных растений, произрастающих

в разных районах г. Калининграда видоспецифично: максимальный уровень (АК — 69,81 мкг/г, рутина — 2,9 мкг/г) отмечен у *Trifolium hybridus* L., а минимальный (АК — 24,09 мкг/г, рутина — 0,4 мкг/г) — у *Medicago lupulina* L. Повышенный пул исследуемых антиоксидантов был отмечен у растений, произрастающих вблизи центральных автомагистралей города с большим объемом транспортных выбросов. Возможно, это связано с тем, что по мере усиления антропогенного загрязнения окружающей среды происходит увеличение содержания антиоксидантов, что может являться одним из физиологических механизмов адаптации к неблагоприятным условиям. Таким образом, максимумы накопления исследуемых веществ наблюдались в листьях газонных растений, произрастающих на улицах, являющихся основными транспортными артериями города Калининграда. Высокий уровень компонентов антиоксидантной защиты можно использовать как тест — индикатор на загрязнение различными поллютантами. Повышенное содержание антиоксидантов может определять степень адаптационных способностей растений и позволяет выделить зоны с разным уровнем загрязнения.

Компонентный состав аромата срезанных роз в зависимости от состава питательного раствора

Артюшина Ирина Юрьевна

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия
artuwina@mail.ru

Современные сорта роз часто не имеют специфического запаха, что может быть связано с нехваткой доступного субстрата для биосинтеза пахучих веществ. Метаболическое влияние на цветочный аромат заключается в применении для питания растения композиции, содержащей предшественники цветочного аромата. Цель настоящей работы заключалась в определении действия таких предшественников цветочного аромата как бензойная, ацетилсалициловая кислоты и фенилаланин, при добавлении их в питательный раствор на изменение запаха срезанных роз. Для исследования использовали сорт роз Flash Night, обладающих слабым, невыраженным ароматом. Изменение аромата определяли по качественным и количественным характеристикам выделяемой розой смеси пахучих веществ, анализируя их методом газовой хроматографии — масс-спектрометрии (FOCUS DSQ-11 (Финниган — США)). Для выделения летучих компонентов использовали твердофазную адсорбцию с последующей термической десорбцией. Для всех вариантов эксперимента было характерно наличие ацетофенона, бензальдегида, метилбензилового эфира, виниланизола и метиланизола, 3,5-диметокситолуола, 1,3,5-триметоксибензола, 3-гексенола и терпенов — α - и β -пинена, камфена, кариофиллена, карена, лимонена, оцимена, мууролена и др. При добавлении в питательный раствор фенилаланина в смеси выделенных розой веществ появился новый компонент — анизол (метоксибензол) и исчезли бензиловый спирт, дигидро- β -ионон и 2-гексаналь. Вариант с добавлением бензойной кислоты отличался от контрольного варианта появлением 2-гептанона, 2-этилнорборнана, метилбензоата, нонанала и метилэвгенола. Смесь пахучих компонентов, выделенных цветками роз варианта с внесением ацетилсалициловой кислоты в питательный раствор, отличалась появлением 1-пентанола, 3-гексенала, ионана, ментола, бутилциклогексанона, карвона, диметилсалицилата и метилсалицилата. При увеличении концентрации предшественника в питательном растворе изменялось общее количество компонентов смеси: внесение ацетилсалициловой кислоты в концентрации 2 мг/мл приводило к увеличению идентифицированных пахучих веществ на 28 % по сравнению с вариантом с меньшей концентрацией (1 мг/мл). Компонентный состав смеси пахучих веществ был одинаков вне зависимости от концентрации внесенного предшественника. Для варианта с внесением одинарной и двойной доз ацетилсалициловой кислоты основными компонентами аромата являлись лимонен, триметокситолуол, триметоксибензол, кариофиллен и β -мууролен. Количественное соотношение перечисленных компонентов сохранялось. Таким образом, добавление в питательный раствор для срезанных роз предшественников пахучих веществ, может влиять на запах за счет изменения состава выделяемой цветами смеси компонентов.

**Участие пролиновых аминопептидаз
в регуляции биогенеза белков фотосинтетических комплексов**

Баик Алина Святославовна

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия

a_baik@mail.ru

Протеолиз N-концевых аминокислотных остатков полипептидов играет важную роль в стабильности и сборке клеточных белков, обеспечивая тонкую регуляцию их функциональной активности и качества на посттрансляционном уровне. В N-концевой протеолиз белков вовлечены пептидазы, различающиеся по своим функциональным свойствам, в том числе белки семейства пролинспецифичных аминопептидаз. Эта группа ферментов является важной составляющей избирательного протеолиза белков, поскольку гидролиз пептидной связи, образованной пролином может осуществляться лишь ограниченным числом ферментов. Пролиновые аминопептидазы P (AMPP), катализирующие гидролиз пептидной связи, в образовании которой принимает участие иминогруппа пролина, являются металлопептидазами и относятся к M24 семейству. К настоящему времени наиболее охарактеризована пролиновая аминопептидаза P гетеротрофной бактерии *Escherichia coli*. У растений и фотосинтезирующих бактерий пролиновые аминопептидазы до сих пор не изучены. Поиск гомологичных белков показал присутствие как минимум двух гомологов AMPP1 и AMPP2 у растения *Arabidopsis thaliana*, причём с различной локализацией белков, в митохондриях и хлоропластах клетки, соответственно, и одного гомолога (PerP) в клетках фотосинтезирующей цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC6803. С использованием подхода «обратной» генетики, когда прямая инактивация гена, кодирующего целевой белок, позволяет выяснить его функцию, нами было показано возможное участие PerP в биогенезе белков фотосинтетического аппарата.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 12-04-00049.

**Выяснение роли АБК-связывающих белков, кодируемых генами-гомологами
Arabidopsis thaliana, в ответе растений на стрессовое воздействие**

Барташевич Дарья Александровна

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия

bartashevichda@gmail.com

Одной из важнейших проблем современной физиологии растений является изучение механизмов адаптации растений к неблагоприятным условиям окружающей среды. Многие аспекты физиологических ответов на действие различных стрессовых факторов, таких, например, как засуха, засоление, пониженные температуры, связаны с растительным гормоном — абсцизовой кислотой (АБК). К настоящему времени остаются до конца не изученными механизм действия АБК и факторы, вовлеченные в сигнальный и метаболический пути этого гормона. В работе изучались три гена-гомолога из *Arabidopsis thaliana*, кодирующие белки с неизвестной функцией и, как нами было показано, обладающие АБК-связывающими свойствами. С целью выяснения функций этих белков была изучена экспрессия генов-гомологов на уровне мРНК и белка в ответ на действие засоления (150 mM NaCl), пониженной температуры (+4°C), а также на действие экзогенной АБК (10⁻⁶ M) у 7-дневных растений дикого типа (экотип Columbia-0) и одинарных инсерционных мутантов по этим генам. С помощью ПЦР после обратной транскрипции было показано, что экспрессия всех трех генов на уровне мРНК увеличивалась по сравнению с контролем через 6 ч после начала действия стрессоров или обработки АБК, и достигала максимального значения через 12 ч. Динамику содержания белков-гомологов изучали при помощи вестерн-блот анализа с использованием полученных нами поликлональных антител. Показано, что содержание всех исследуемых белков начинало увеличиваться только на вторые сутки после обработки. При этом во всех экспериментах мутантные растения имели сходный с диким типом профиль экспрессии изучаемых генов как на уровне мРНК, так и на уровне белка. Таким образом, изучаемые нами гены-гомологи *A. thaliana*, кодирующие АБК-связывающие белки, являются стресс- и гормон-

индуцибельными. Достаточно поздняя их реакция на экзогенную АБК и стрессовое воздействие позволяет предположить их участие в процессах, связанных с клеточным ответом на действие данных факторов. Отсутствие различий в экспрессии генов у мутантов и растений дикого типа, возможно, объясняются выполнением этими белками сходных функций.

Салициловая кислота регулирует метаболическую активность митохондрий

Буцанец Павел Андреевич

Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева РАН, Москва, Россия

p.corbeau@list.ru

Накоплено большое количество данных о физиологическом эффекте салициловой кислоты (СК) на дыхание и процессы трансформации энергии в митохондриях растений. Обладая свойствами протонофора, СК может воздействовать на генерацию трансмембранного электрического потенциала ($\Delta\psi$) митохондрий и разобщать процесс окислительного фосфорилирования. В конце 80-х годов, при изучении термогенных тканей цветов ароидных было показано, что СК регулирует активность альтернативной терминальной оксидазы (АО). Однако вопрос о влиянии СК на метаболизм и физиологической роли в регуляции активности АО в нетермогенных тканях остается открытым. Объектом исследования были изолированные этиолированные семядоли проростков люпина желтого (*Lupinus luteus* L.). Митохондрии выделяли методом дифференциального центрифугирования. Дыхание митохондрий регистрировали по поглощению кислорода на приборе *Oxytherm* (*Hansatech Instruments, UK*). Вклад АО в общее дыхание митохондрий изучали методом ингибиторного анализа с применением KCN и салицилгидроксамовой кислоты. Изменение $\Delta\psi$ регистрировали на спектрофотометре с использованием красителя сафранин. Эксперименты на интактных митохондриях показали, что добавление СК в реакционную ячейку тормозит поглощение кислорода при окислении НАД-зависимых субстратов в состоянии 3 и активирует в состоянии 4 достигая максимума при 5,0 мМ. Кроме того, СК снижала величину $\Delta\psi$, приводя к почти полной его диссипации при концентрации 5,0 мМ. Комплексные результаты позволяют утверждать, что при действии на интактные митохондрии в концентрациях до 5,0 мМ, СК является разобщителем окислительного фосфорилирования, а выше — ингибитором митохондриального дыхания. Экспозиция изолированных семядолей на растворе 1,0 мМ СК в течение 12 ч повышала скорость поглощения кислорода как в состоянии V3, так и V4 при окислении малата в присутствии глутамата. Кроме того, СК усиливала мощность АО в 2 раза по сравнению с контролем. Выдерживание семядолей на растворе 5,0 мМ СК не влияло на общую скорость дыхания митохондрий, ингибируя цитохромный путь окисления (ЦП) на 30 %, на фоне увеличения мощности АО. Таким образом, СК регулирует активность ЦП и АП, зависимое от концентрации и времени экспонирования семядолей на растворах фитогормона.

Фенольные соединения растений вида *Limonium gmelinii* и *Limonium tyrianthum*

Гадецкая Анастасия Валерьевна

Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Алматы, Республика Казахстан

avg01.08@mail.ru

Изучен состав фенольных соединений растений рода *Limonium* Mill, имеющих промышленные запасы на территории нашей страны. Показано наличие практически всех представителей класса флавоноидов (флавонолов, бифлавоноидов, проантоцианидинов и конденсированных танинов). Олигомерные проантоцианидины, которые находят применение в качестве биологически активных добавок к пище, являются действующими веществами растений вида *Limonium gmelinii* и *Limonium tyrianthum*. На основании химических, хроматографических и спектральных данных в растениях были идентифицированы флавоноиды, стильбены, фенолокислоты. В ходе исследования первоначально проводилась избирательная экстракция исследуемых объектов разнополярными растворителями, с целью удаления липофильных компонентов и балластных веществ растений, а также для достижения предварительного частичного разделения различных групп БАВ. Полученные фракции затем концентрировали под вакуумом в мягких условиях. Далее адсорбционным

хроматографированием на полиамиде, силикагеле и сеффадексе наряду с мономерными флаванами (1-4), димерными проантоцианидинами (5,6), были обнаружены различные гликозиды кверцетина и мирицетина. Мономерные флаваны были идентифицированы как (+)-галлокатехин (1), (-)-эпигаллокатехин (2), (-)-эпигаллокатехин-3-О-галлат (3) и (-)-3,5,7,3',4',6'-гексаоксифлаван (4). Все эти вещества дают с ванилиновым реактивом и солями железа (Fe^{3+}) характерное для флаванов окрашивание, димерные проантоцианидины (5,6) под действием 50%-ного раствора КОН расщепляются до флороглюцина и галловой кислоты, при нагревании с 2 н. HCl образуют антоцианидиновый краситель — дельфинидин (λ_{max} 544 нм). В присутствии 0,01 н. HCl из вещества 5 образуется соединение 3, а из вещества 6 — соединение 4. Таким образом, димер 5 на основании физико-химических констант идентифицирован как 2R,3R,4R-(-)-эпигаллокатехин-(4 β →8)-2R,3R-(-)-эпигаллокатехин-3-О-галлат, а димерный проантоцианидин 6 идентифицирован как 2R,3R,4R-(-)-эпигаллокатехин-(4 β →8)-(-)-2R,3R,3,5,7,3',4',6'-гексаоксифлаван. Димерность флаванов подтверждает масса молекулярных ионов M^+ 987, соответствующая вычисленной для моно-ацетилперметилового эфира флавана 5 и M^+ 834 для диацетилперметилового эфира флавана 6. Интересно отметить, что противомикробная активность соединений в комплексе гораздо выше, чем в индивидуальном виде. Данные, полученные при их анализе, указывают на биохимическую связь представленных мономерных, димерных, олигомерных и полимерных продуктов. Выделение очищенных комплексов активных веществ в качестве биологически активных добавок к пище приобретает все большую важность на сегодняшний день как компонент здорового питания.

Активность ферментов компонентов антиоксидантной системы растений в условиях солевого стресса

Галактионова Мария Владимировна

Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия

dvormar@mail.ru

Засоленность почв — один из основных признаков неблагоприятного состояния земель, этот фактор присутствует практически во всех природных зонах. Адаптация растений к засолению является сложным интегральным процессом, протекающим на всех уровнях структурной организации растений и затрагивающим все функции растения. В последнее время в литературе, появилось значительное количество работ по влиянию засоления на образование активных форм кислорода (АФК) в клетках. АФК постоянно образуются в растительных и животных клетках. В настоящей работе была поставлена задача изучить активность ферментов антиоксидантной системы растений в условиях засоления. Объектом исследования служили семена пшеницы сорта «Станичный» урожая 2011 года, выращенные на слабозасоленных почвах. Семена проращивали на растворах 0,1М NaCl и 0,2 М NaCl в чашках Петри при температуре 25 °С. Контролем служили семена, замоченные в дистиллированной воде. Проведенные исследования показали: на контроле всхожесть составила 98 %, энергия прорастания — 99 %; при засолении 0,1 М NaCl всхожесть — 93 %, энергия прорастания — 95 %. Засоление 0,2 М NaCl — 65 % и 67 % соответственно. Активность каталазы возрастала с повышением концентрации соли в растворе: контроль — 0,2607мкат/л; 0,1М NaCl — 0,2819мкат/л; 0,2 М NaCl — 0,4237мкат/л. С увеличением концентрации соли менялось содержание МДА: (надземная часть растения) контроль — 0,107нмоль/мл; 0,1М NaCl — 0,093 нмоль/мл; 0,2 М NaCl — 0,063 нмоль/мл; (корни) контроль — 0,043 нмоль/мл; 0,1М NaCl — 0,081 нмоль/мл; 0,2 М NaCl — 0,097 нмоль/мл. Активность пероксидазы так же как и активность каталазы увеличивалась с повышением концентрации: (надземная часть) контроль — 31 Е/мг; 0,1 М NaCl — 50 Е/мг; 0,2 М NaCl — 72 Е/мг; (корни) контроль — 29 Е/мг; 0,1М NaCl — 47 Е/мг; 0,2М NaCl — 65 Е/мг. Таким образом, моделируемое засоление в концентрациях 0,1 М и 0,2 М вызывало снижение всхожести и энергии прорастания. Наблюдалось снижение содержания МДА в побегах и повышение количества МДА в корнях, активность каталазы возрастала по сравнению с контролем и в корнях и в надземной части. Активности пероксидазы увеличилась как в побегах так и в корнях.

Антиоксидантная система плодов *Vaccinium corymbosum* L. и *Vaccinium uliginosum* L.

в процессе созревания

Деева Алла Михайловна

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Беларусь

a_makarevich@tut.by

В стрессовых условиях для контролирования окислительных процессов необходима быстрая адаптация растения к условиям окружающей среды. Известно, что активность антиоксидантной системы растения может повышаться при воздействии стрессов различной природы. Уровень адаптации растений в значительной степени определяется соотношением уровня перекисного окисления липидов (ПОЛ) и активности антиоксидантной системы. Для оценки изменения активности антиоксидантной системы плодов голубики в течение вегетационного периода мы измеряли величину активности одного из основных ферментов антиоксидантной защиты каталазы и содержание малонового диальдегида (МАД) в зеленых и спелых плодах 14 сортов *V. corymbosum* L.: Bluecrop, Bluegray, Bluerose, CarolinaBlue, Darrow, Duke, Elisabeth, HardyBlue, Herbert, Jersey, Nelson, Northblue, Northland, Patriot и *V. uliginosum* L. Установлено, что активность каталазы в зеленых плодах колеблется в пределах от $16,8 \pm 0,9$ мМ H_2O_2 /мл экстракта до $144,8 \pm 1,9$ мМ H_2O_2 /мл экстракта, тогда как в спелых плодах снижается, находясь в диапазоне от $4,9 \pm 0,2$ мМ H_2O_2 /мл экстракта до $39,6 \pm 0,7$ мМ H_2O_2 /мл экстракта. Активность каталазы в зеленых плодах выше в среднем в 2,5–5 раз, а для сорта Herbert в 29,5 раз. Коэффициент корреляции между показателями активность каталазы — содержание МАД в зеленых плодах равен — 0,5731, данный показатель для спелых ягод являлся незначимым. Как известно, высокий уровень формирования первичных и вторичных продуктов перекисного окисления липидов сопровождается компенсаторной активацией антиоксидантной системы, о чем свидетельствовало повышение показателей активности каталазы в зеленых плодах. Созревание плодов, сопровождавшееся значительным увеличением количества антоцианов, приводило к уменьшению активности каталазы, что может косвенно свидетельствовать о роли антоцианидинов в системе антиоксидантной защиты растения. При этом наблюдаемое постоянство в уровне содержания МАД в плодах при их формировании и созревании свидетельствует о поддержании постоянства в функционировании антиоксидантной системы за счет попеременного действия как высокомолекулярных так и низко-молекулярных антиоксидантов: уменьшения активности ферментной защиты при повышении содержания основных низкомолекулярных антиоксидантов, таких как антоцианы в процессе созревания. Таким образом, показана роль антоцианов как высокоэффективных ловушек радикалов и их участие в антиоксидантной системе плодов голубики высокой и топяной.

Особенности реакции тетраплоидной гречихи на низкоинтенсивное электромагнитное воздействие

¹Еловская Нинель Анатольевна, ²Пушкина Н. В.

¹Белорусский государственный педагогический университет им. Максима Танка, Минск, Беларусь

²НИИ Ядерных проблем БГУ, г. Минск, Беларусь

tytsi_92@mail.ru

В Республике Беларусь остро стоит проблема повышения урожайности и устойчивости сельскохозяйственных растений к неблагоприятным факторам среды. Среди крупяных культур ведущее место занимает гречиха. Однако урожайности семян гречихи в условиях Республики Беларусь остается достаточно невысокой. В связи с этим возникла необходимость поиска эффективных, экологических и экономичных стимулирующих факторов, направленных на повышение агрономических качеств семян, устойчивости и урожайности данной культуры. В настоящее время много позитивных отзывов получила предпосевная физическая обработка семян, а именно электромагнитное излучение (ЭМИ). Это послужило отправной точкой для начала исследований. Обработка семян тетраплоидной гречихи сорта «Илия» низкоинтенсивным электромагнитным излучением СВЧ-диапазона производилась в НИИ

Ядерных проблем БГУ в трех режимах: Режим 1 (частота обработки 54–78 ГГц, время обработки 20 минут); Режим 2 (частота обработки 64–66 ГГц, время обработки 12 минут); Режим 3 (частота обработки 64–66 ГГц, время обработки 8 минут). Были заложены лабораторные опыты по 50 семян в трехкратной повторности. Семена проращивали при интенсивном освещении и температуре 20–21 °С. Оценивались энергия прорастания, всхожесть, морфометрические показатели и содержание основных фотосинтетических пигментов на ранних этапах развития. Результаты были обработаны с помощью пакета программ Microsoft Excel. Показано, что все 3 Режима несколько снижают энергию прорастания по сравнению с контролем. Режим 1 повышает всхожесть семян (на 6 %), тогда как Режимы 2 и 3 снижают данный показатель на 6 % и 4 % относительно контроля. Установлено, что изучаемые режимы тормозят ростовые процессы корней. Однако Режимы 1 и 2 оказывают стимулирующее влияние на развитие надземных побегов. Выявлено, что все изученные режимы ЭМИ снижают уровень Хл *a* и каротиноидов. Режимы 1 и 2 повышают содержание Хл *b*, тогда как Режим 3 снижает данный показатель по сравнению с контролем. Таким образом, в ходе исследований установлена специфическая реакция тетраплоидной гречихи на ЭМИ воздействие. Анализ влияния низкоинтенсивного электромагнитного излучения СВЧ-диапазона на растения тетраплоидной гречихи показал, что данное воздействие было достаточно стрессогенным. Поэтому интенсивность и длительность воздействия режимов должна быть скорректирована.

Влияние 24-эпибрассинолида на морфометрические и биохимические показатели ячменя

Ефремова Ксения Витальевна

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

efremova-kseniya@mail.ru

Брассиностероиды — класс гормонов, близких к животным стероидам, обнаруженные у многих высших растений. 24-эпибрассинолид (ЭБ) — фитогормон стероидного типа, обладающий высокой рострегулирующей и адаптогенной активностью при физиологических концентрациях. Исследования были выполнены на растениях ячменя (*Hordeum vulgare*, сорт Раушан). Были поставлены лабораторные эксперименты по изучению влияния различных концентраций 24-эпибрассинолида на прорастание семян, длину корня и морфометрию тест-растений. Также выполнен вегетационный эксперимент по изучению влияния 24-эпибрассинолида в концентрациях 10^{-7} – 10^{-6} М на рост и развитие растений ячменя в первые фазы онтогенеза. В свежем растительном материале определяли активность пероксидазы, содержание пигментов (хлорофилл (*a+b*), каротин) и процентное содержание белка. Методом биотеста установлено, что стимуляция ЭБ проявляется в концентрации $<10^{-8}$ М, а в больших концентрациях ($>10^{-7}$ М) проявляется его ингибирующее действие. Установлено, что на свету, под действием ЭБ в концентрации 10^{-7} М синтез хлорофилла и каротиноидов ингибируется (ниже на 35,4 % и 4,9 % соответственно). В этиолированных проростках концентрация пигментов оказалась на порядок ниже, чем в условиях освещенности. Причем, тенденция к снижению содержания хлорофилла (*a+b*) с увеличением концентрации ЭБ сохранялась, а содержание каротиноидов увеличивалось (с 0,101 до 0,164 мг/100 г). В вегетационном эксперименте при воздействии концентрацией ЭБ 10^{-7} М было получено увеличение биомассы на 21,2 % по сравнению с контролем. В диапазоне рабочих концентраций (10^{-9} – 10^{-6} М) установлены разнонаправленные эффекты в зависимости от концентрации. С повышением концентрации установлено ингибирующее действие ЭБ ($\geq 10^{-7}$ М) на высоту растения ячменя и длину листа (снижение на 1,7 и 22,7 % по высоте и на 5,1 и 11,1 % по длине листа). Обработка растений ячменя в фазе трёх листьев при фолиарном воздействии разных концентраций ЭБ (10^{-7} и 10^{-6} М) в вегетационном эксперименте сопровождалась снижением содержания белка в надземной массе на 8,3 и 4,7 % соответственно, по сравнению с контролем. Выявлена зависимость между концентрацией эпибрассинолида и активностью фермента пероксидазы, которая в соответствии с концентрациями ЭБ (10^{-6} М и 10^{-7} М) снижается на 69,6 % и 35,3 %, соответственно, относительно контроля.

Особенности влияния ЭМИ на ранние этапы прорастания зернобобовых и лекарственных растений

Кайзинович Ксения Яковлевна, (Баханькова Е.А.)

*Белорусский государственный педагогический университет им. Максима Танка, Минск, Беларусь
ksunchik20082008@yandex.ru*

На сегодняшний день одной из актуальных проблем, которая стоит перед сельскохозяйственными производителями является несоответствие физиологического качества посевного материала требованиям современных интенсивных технологий возделывания кормовых и лекарственных культур, заключающееся в необходимости увеличения адаптивных свойств растений к неблагоприятным условиям и повышению урожайности. Поэтому данная работа предполагает исследование влияния различных режимов низкоинтенсивного электромагнитного излучения (ЭМИ) на семена, определение оптимальных экспозиций воздействия, увеличивающих скорость набухания, повышающих всхожесть, активизирующих ростовые процессы. В качестве объектов исследования были взяты семена растений *Lupinus angustifolius* и *Silybum marianum*, подвергшиеся ЭМ воздействию в различных частотных режимах в Институте ядерных проблем БГУ. Для люпина — Режим 1 (частота обработки 54–78 ГГц, время обработки 20 мин.); Режим 1* (54–78 ГГц, 10 мин., без предварительного замачивания семян); Режим 1* (54–78 ГГц, 10 мин., с замачиванием); Режим 3 (64–66 ГГц, 8 мин.); для расторопши — только Режим 1 и 3. Анализ скорости набухания семян выявил однозначную положительную реакцию растений на ЭМИ. В ходе опыта наблюдалось увеличение скорости набухания при всех режимах у люпина узколистного, но наиболее значимо под влиянием режима 1* — на 19 % выше контрольных значений, и повышение данного показателя у расторопши пятнистой после воздействия режимом 3. В ходе исследований выявлена избирательная реакция люпина узколистного с. «Першацвет» и расторопши пятнистой с. «Шептуха» на режимы ЭМИ СВЧ-диапазона, проявившаяся в различной всхожести. Так люпин оказался наиболее отзывчивым на воздействие режимом 1* (с предварительным замачиванием — 100 % всхожесть), тогда как режим 3 снижал всхожесть на 10 % по данным на 3-й день онтогенеза. У расторопши отмечено снижение всхожести после воздействия режимом 1 и стимуляция ростовых процессов при обработке режимом 3. Полученные данные свидетельствует о том, что низкоинтенсивное ЭМИ СВЧ-диапазона изменяет проницаемость мембран, возможно, образуя в них некие микротрещины, что в итоге вызывает изменения в скорости протекания метаболических реакций.

Позиционный состав триацилглицеринов из масла семян подсолнечника (*Heliantus annuus* L.)

Кизеев Алексей Николаевич

*Полярно-альпийский ботанический сад-институт имени Н.А. Аврорина
Кольского научного центра РАН, Апатиты, Россия
aleksei.kizeev@mail.ru*

Подсолнечник является одной из важнейших масличных культур мира. Получаемое из его семян масло — ценный пищевой продукт и главный поставщик в организм человека полиненасыщенных высших жирных кислот, прием которых жизненно необходим. В последнее время большой интерес проявляется к изучению липидных компонентов новых сортов подсолнечника. Поэтому целью данной работы стало определение позиционно-типового и позиционно-видового состава триацилглицеринов, выделенных из масла семян подсолнечника (*Heliantus annuus* L.). Объектом изучения послужили семена скороспелого высокопродуктивного сорта подсолнечника Казачий, полученного специалистами Донской опытной станции им. Л.А. Жданова (Ростовская область) Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур им. В.С. Пустовойта. Исследования семян проводили в 2011 г. в Институте физиологии растений им. К.А. Тимирязева (ИФР) РАН (г. Москва). Состав триацилглицеринов определяли методом газо-жидкостной хроматографии с использованием хроматографа Agilent Technologies (США). Результаты анализировали

с помощью системы сбора и обработки хроматографических данных GC_MS/Enhanced (США). Установлено, что в триацилглицеринах содержались остатки ненасыщенных (U) жирных кислот — линолевой (C18:2) и олеиновой (C18:1). Из насыщенных (S) жирных кислот преобладали пальмитиновая (C16:0) и стеариновая (C18:0), которые могут участвовать в синтезе полиненасыщенных жирных кислот. Процент ненасыщенных жирных кислот был выше, чем насыщенных. В масле семян подсолнечника было определено большинство возможных типов триацилглицеринов: SSU, SUS, USU, SUU и U3. По относительному содержанию в масле доминировали типы триацилглицеринов U3, SUU и SUS. Остальные типы триацилглицеринов были обнаружены в меньшем количестве. В масле семян подсолнечника в позиционно-видовом составе у типа триацилглицеринов U3 преобладали виды ЛЛЮ, у типа SUU — ЛЛП, а у типа SUS — ПЛС и ПЛП. Таким образом, проведенные исследования позволили впервые получить полезную информацию о позиционно-типовом и позиционно-видовом составе триацилглицеринов, полученных из семян изучаемого сорта подсолнечника.

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

Роль клеточной стенки в поглощении Cu^{2+} корнями растений (на примере *Triticum aestivum* L. и *Vigna radiata* (L.) R.Wilczek)

Кушунина Мария Александровна

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

lazymary@rambler.ru

Депонирование ионов металлов в клеточной стенке (КС) растений в условиях загрязнения среды тяжёлыми металлами является эффективным механизмом их метаболической инактивации. Накопление меди в апопласте было показано в ряде исследований, однако полученные данные зачастую противоречивы. В настоящей работе проведено сравнительное исследование поглощения Cu^{2+} 10-дневными растениями маша и пшеницы и изолированными из их корней клеточными стенками при концентрации Cu^{2+} в среде (C_{Cu}) 10–100 мкМ. Определено, что при $C_{\text{Cu}} = 10$ мкМ у пшеницы и маша адсорбционная способность КС различается мало, но в обоих вариантах количество ионов Cu^{2+} , поглощенных корнями растений в пределах погрешности совпадает с количеством ионов, адсорбированных КС. Эти результаты позволяют заключить, что при этой концентрации депонирование Cu^{2+} в КС является основным механизмом защиты от проникновения избытка Cu^{2+} в клетки корня. Это заключение поддерживается данными об изменении содержания Cu^{2+} в надземных органах растений. И у пшеницы, и у маша отличия в этом показателе между контрольными и опытными растениями составляли не более 2%. С увеличением C_{Cu} до 50 мкМ доля ионов меди, адсорбированных КС маша и пшеницы, относительно общего количества меди, поглощенной корнями, снижается до 0,8 и 0,4, а при 100 мкМ — до 0,65 и 0,3 соответственно. Различная ионообменная способность КС исследуемых растений в отношении Cu^{2+} связана с разным содержанием в них карбоксильных групп полигалактуроновых кислот в составе пектиновых веществ, которые участвуют в связывании Cu^{2+} . Бобовые растения характеризуются большим содержанием этих функциональных групп, что и обуславливает более высокую долю апопластного поглощения меди в общем поглощении Cu^{2+} корнями маша по сравнению с пшеницей. Следует отметить, что КС корней маша даже при высоких концентрациях Cu^{2+} в среде способны адсорбировать более половины катионов, поступивших в ткани корня. Результаты исследования позволяют сделать вывод о том, что депонирование Cu^{2+} в клеточные стенки корня служит механизмом детоксикации Cu^{2+} у растений маша и пшеницы, при этом его эффективность зависит от концентрации Cu^{2+} в среде и вида растения.

Проявление окислительного стресса в каллусных культурах огурца и редиса при действии тяжелых металлов

Михайлова Ирина Дмитриевна

Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, г. Саранск, Россия

kariglazayi@yandex.ru

Целью настоящей работы было изучение влияния ионов Cu^{2+} ; Zn^{2+} ; Pb^{2+} ; Ni^{2+} на скорость генерации супероксидного анион-радикала (O_2^-) и интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) в каллусной культуре огурца и редиса. Поверхностно стерилизованные семена огурца и редиса проращивали на мостиках, 7-дневные стерильные растения эксплантировали на питательную среду Мурасиге-Скуга (МС), содержащую 2,4-Д (от 1 мг/л до 5 мг/л) и 6-БАП (от 0,5 мг/л до 2 мг/л), глицин, никотиновую кислоту и мезоинозит для образования каллусной ткани. Для оценки влияния тяжелых металлов (ТМ) на физиологические процессы каллусную ткань огурца и редиса гипокотильного происхождения, выращенную на среде МС без ТМ, пересаживали на среду с солями $\text{NiSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (10 мкМ, 0,1 мМ, 1 мМ) и через 4 недели оценивали генерацию O_2^- и интенсивность ПОЛ в каллусах. Показано, что длительное выращивание каллусов огурца и редиса на среде с избытком ТМ в большинстве вариантов не индуцировало повышения генерации O_2^- (за исключением ионов Zn^{2+} для огурца и ионов Pb^{2+} для редиса). Возможно, что растущая в условиях хронического действия ТМ культура клеток адаптируется к ТМ, либо за счет селекционных процессов, либо путем биохимической адаптации. При действии ионов Zn^{2+} на генерацию O_2^- реакция каллусов редиса была парадоксальной — при всех использованных концентрациях показатели были ниже контроля; возможно, происходит ингибирование ферментных систем или систем транспорта электронов, участвующих в генерации O_2^- . Интенсивность ПОЛ отражает силу стрессового воздействия на растительные клетки, и по степени ее увеличения оценивают повреждение клеток и их мембран. В данном эксперименте оценивали влияние различных концентраций ТМ в среде выращивания на изменение уровня реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) соединений). На этой основе выявлено токсическое действие на каллусы огурца лишь некоторых ТМ — Zn^{2+} , Cu^{2+} и Pb^{2+} (в концентрации 1 мМ). Во всех остальных вариантах интенсивность ПОЛ была ниже контроля. В то же время для каллусов редиса наибольшее негативное влияние оказали ионы Pb^{2+} и Ni^{2+} (в концентрации 10 мкМ).

Выражаю благодарность научному руководителю профессору А.С. Лукаткину.

Локализация стресс-индуцируемых белков HlipA и HlipB в фотосинтетическом аппарате цианобактерий *Synechocystis PCC 6803*

Мокерова Дарья Валерьевна

Институт биохимии имени А.Н. Баха Российской академии наук, Москва, Россия

daryamokerova@mail.ru

В процессе эволюции фотосинтезирующие организмы выработали различные механизмы защиты от избыточного света, к ним относятся недавно обнаруженные белки — high-light induced proteins (HLIPs), которые индуцируются светом высокой интенсивности и относятся к мультигенному семейству светособирающих хлорофилл a/b-связывающих белков. Эти белки локализованы в тилакоидной мембране и имеют большое значение для выживания фотосинтезирующих организмов в условиях интенсивного света. Однако функции этих белков и их локализация в фотосинтетическом аппарате изучены недостаточно. Объектом исследования служили цианобактерии *Synechocystis PCC 6803*, любезно предоставленные кафедрой генетики МГУ. В отличие от высших растений комплекс фотосистемы 1 (ФС1) цианобактерий существует в тилакоидах в виде тримеров. Предполагают, что образование тримеров комплексов ФС1 необходимо для большей стабильности комплекса и защиты от фотодеструкции. Для проведения исследований использовали модифицированную методику выделения комплексов ФС1 и ФС2, а также тримеров ФС1 с помощью ионно-обменной хроматографии. Удалось выделить из цианобактерии интактные высоко активные тримеры комплексов ФС1. Активность ФС1 определяли на флуориметре DUAL-PAM-101 с приставкой ED-P700 DW-101 (Walf, Германия). С помощью электрофореза ПААГ подтверждена

интактность выделенных тримеров ФС1, содержащих все субъединицы комплекса. Методом вестерн-блоттинга удалось идентифицировать белки H1pA и H1pB в составе комплексов фотосистем. По полученным результатам можно сделать вывод о том, что стресс-индуцируемые белки H1pA и H1pB содержатся в тримерах комплексов ФС1. Предполагают, что исследуемые белки индуцируются светом высокой интенсивности, по другим данным они стимулируются нарушениями ФС1. Однако данное исследование показало, что H1pA и H1pB содержатся в комплексах фотосистем и при оптимальных условиях выращивания. Стрессовое воздействие сильного света вызывает более сильную индукцию исследуемых белков. Таким образом стресс-индуцируемые белки H1pA и H1pB локализованы в тримерах комплексов ФС1, что предполагает их участие в защите фотосинтетического аппарата цианобактерий от фотодеструкции. Возможно, что защитная функция H1p белков связана с наличием в их последовательности хлорофилл-связывающего домена.

Активность каталазы в проростках пшеницы на разнокачественном свете в условиях засоления и при действии тяжелых металлов

Мутугуллина Алина Ильдаровна

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия
mutugullina-alina@mail.ru*

Каталаза принадлежит к числу наиболее интенсивно изучаемых ферментов. Тем не менее работ по влиянию света различного спектрального состава на антиоксидантные ферменты в литературе практически не встречается. В связи с этим целью настоящей работы явилось исследование активности каталазы у проростков пшеницы при выращивании на разном качественном спектральном свете при засолении (NaCl) и действии тяжелых металлов (Cd, Cu). Объектом исследования служили семисуточные проростки пшеницы (*Triticum aestivum L.*) сорта Казанская 560. Растения выращивались в растильне, разделенной на три светоизолированных блока: 1 — белый свет (источник освещения — люминесцентные лампы ЛДС-40), 2 — синий свет (источник освещения люминесцентные лампы ЛГ-40, пик пропускания 420-460 нм), 3 — красный цвет (источник освещения — люминесцентные лампы ЛК-40, пик пропускания 620-640 нм) при 12-часовом фотопериоде. Проростки выращивали на водопроводной воде в кюветах (контроль). Засоление вызывали добавлением на третьи сутки в среду выращивания NaCl в концентрации 150 мМ. Действие тяжелых металлов было обусловлено CdSO₄ концентрацией 1мМ и CuSO₄ концентрацией 1мМ. В контрольном варианте наибольшая каталазная активность наблюдалась в листьях и не имела выраженной спектральной зависимости. При засолении наблюдали органоспецифическую реакцию активности каталазы, в листьях активность понижалась, а в корнях увеличивалась. Действие тяжелых металлов вызывало повышение каталазной активности в корнях вне зависимости от качества света. Ответная реакция листьев на воздействие тяжелыми металлами зависела от химической природы металла и имела выраженную спектральную зависимость. Возрастание активности каталазы было только у проростков с КС под воздействием меди. Таким образом, нами не было выявлено спектральной зависимости каталазной активности в корнях при засолении и действии тяжелых металлов. В листьях красный свет увеличивал активность каталазы при воздействии меди.

Жирнокислотный состав липидов и кормовая ценность растений Якутии

Нохсоров Василий Васильевич¹, Столбикова Александра Вячеславовна²

¹Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск, Россия,

²Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия

NohVasyaVas@mail.ru

В последние годы особый интерес представляет изучение жирнокислотного состава одно- и многолетних кормовых травянистых растений. Известно, что устойчивость растительного организма к низкотемпературному стрессу приводит к формированию кормовой ценности растений в результате накопления в их клетках криопротекторов (белки, углеводы, липиды) и низко- и высокомолекулярных антиоксидантов. В связи с этим является актуальным изучение

жирнокислотного состава липидов у травянистых растений, произрастающих в криолитозоне Якутии. Методом газожидкостной хроматографии был изучен жирнокислотный состав липидов 4 видов кормовых растений произрастающих в Центральном и Верхоянском районах Якутии: *Avena sativa*, *Elytrigia repens*, *Equisetum variegatum* и *E. arvense*. Из представленных видов растений высокая степень ненасыщенных жирных кислот обусловлена, в основном, двумя кислотами — линолевой C18:2(n-6) и α -линоленовой C18:3(n-3). Больше всего α -линоленовой кислоты C18:3(n-3) наблюдалось у овса посевного (*Avena sativa*) 66,74 %, затем у хвоща пестрого (*Equisetum variegatum*) 39,65 % от суммы жирных кислот. Самое большое количество линолевой кислоты C18:2(n-6) среди исследуемых видов растений обнаружено в корневой системе пырея ползучего (*Elytrigia repens*) 34,99 %; содержание этой кислоты в зеленых листьях оказалось в 2 раза меньше и составило 15,57 % от суммы кислот. Меньше всего линолевой кислоты содержалось в побегах хвоща полевого (*Equisetum arvense*) 8,15 %. Известно, что именно биосинтез диеновых и триеновых кислот 18:2 ω 6 и 18:3 ω 3 осуществляет биохимическую адаптацию растений к низкой температуре. Из ω 9-жирных кислот исследуемых растений обнаружены моноеновые кислоты — пальмитолеиновая C16:1(n-9), олеиновая C18:1(n-9) и эйкозаеновая C20:1(n-9). Самое большое содержание пальмитолеиновой и олеиновой кислот наблюдалось в корневой системе *Elytrigia repens* и составило 3,63 % от суммы ЖК для пальмитиновой кислоты. Эйкозаеновая кислота C20:1(n-9) среди исследуемых видов присутствовала только у хвощей. Также у хвощей обнаружена 5,11,14,17-эйкозатетраеновая кислота. Содержание C20:4 (5,11,14,17) кислоты у данных видов хвощей практически не отличались. Четыре ненасыщенные связи в этих жирных кислот могут существенно повышать устойчивость клеточных мембран к понижениям температур.

**Особенности биосинтеза запасных триацилглицеринов
и низших алкиловых эфиров жирных кислот клетками суспензионной культуры
бересклета Максимовича (*Euponymus maximoviczianus* Prokh.)**

Сидоров Роман Александрович, Фоменков Артём Алексеевич

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия

roman.sidorov@mail.ru

Ранее мы показали, что некоторые растения рода *Euponymus* L. способны к синтезу необычных для высших растений низших алкиловых эфиров жирных кислот (НАЭЖК). Их синтез наиболее активно протекает в тканях ариллузов, которые обладают исключительно материнским генотипом. Для более детального изучения особенностей состава и возможных механизмов биосинтеза НАЭЖК, мы получили суспензионную культуру из тканей развивающихся ариллузов плодов бересклета Максимовича, которая поддерживается уже более года на среде SH (*Schenk & Hildebrandt*) и характеризуется индексом роста 4-5. Было установлено, что в хлороформных экстрактах из клеток суспензионной культуры присутствуют как триацилглицерины (ТАГ), так и НАЭЖК. Методом ГЖХ-МС мы изучили качественный и количественный состав жирных кислот (ЖК) в ТАГ и состав фракции НАЭЖК. В конце пассажа содержание ТАГ составляло 325-350, а НАЭЖК — 5,5-7 мкг/г сухого веса. Главными ЖК ТАГ клеток суспензионной культуры были 16:0 (13,2 %), 18:0 (4,1 %), Δ 9-18:1 (6,1 %), Δ 9,12-18:2 (45,3 %) и Δ 9,12,15-18:3 (25,4 %); также в их состав входили 12:0, 14:0, Δ 9-16:1, Δ 11-18:1, 20:0 и 22:0 ЖК. Индекс ненасыщенности (ИН) ТАГ составил 1,775. В сравнении с суспензионными культурами, полученными из растений, которые не накапливают жирное масло во внесеменных частях плода, культура бересклета синтезирует на 1–2 порядка больше НАЭЖК (до 7 мкг/г сухого веса против 0,10–0,15 у *A. thaliana*). В отличие от НАЭЖК, выделенных из ариллузов зрелых плодов бересклета Максимовича, НАЭЖК из клеточной культуры помимо метиловых (МЭЖК), этиловых (ЭЭЖК) и *n*-бутиловых (БЭЖК) эфиров ЖК, содержали также *изо*-пропиловые (ИПЭЖК) эфиры 14:0 и 16:0 ЖК. БЭЖК и ИПЭЖК, как в интактных растениях, так и в культуре клеток обнаружены впервые. В течение всего периода субкультивирования фракции ИПЭЖК и БЭЖК содержали только насыщенные ЖК: 14:0, 16:0 и 18:0, в то время как в состав МЭЖК и ЭЭЖК помимо них входили также Δ 9-18:1, Δ 9,12-18:2 и Δ 9,12,15-18:3 ЖК. ИН МЭЖК всегда был выше, чем ИН ЭЭЖК.

Наблюдаемые различия в ЖК-составе отдельных фракций НАЭЖК клеток суспензионной культуры позволяют предположить, что ИПЭЖК и БЭЖК, вероятно, синтезируются из одного пула ЖК, а ЭЭЖК и МЭЖК — из другого.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант № 12-04-31850.

**Влияние гликозидов *Stevia rebaudiana* Bertony
на молекулярную гетерогенность белков клеточной стенки**

Стробыкина Анастасия Сергеевна

*Казанский (Приволжский) федеральный университет,
Институт фундаментальной медицины и биологии, Казань, Россия
stasya-2102@yandex.ru*

Лектины относятся к самостоятельной группе белков — гликопротеинов, характерной особенностью которых является способность специфически и обратимо связывать углеводные лиганды. Они присущи всем живым организмам, поэтому изучение функций лектинов, которые для большинства из них остаются дискуссионными, имеет общебиологическое значение и привлекает пристальное внимание ученых. Объектом исследования являлись проростки озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сортов Мироновская 808 и Казанская 560. Изучалось влияние гликозидов, выделенных из листьев стевии: стевиолбиозида, стевиозида и ребаудиозида С, содержащие 2, 3 и 4 углеводных остатка, соответственно. Было выявлено наибольшее стимулирующее действие стевиозида на рост растений, активность растворимых лектинов и амилолитических ферментов, содержание суммарных белков, а также молекулярную гетерогенность лектинов клеточной стенки. Была обнаружена сортоспецифичность в полипептидном составе лектинов клеточной стенки. Обнаружено появление лектина 45 кД у сорта Казанская 560 при действии производных стевиозида, стимулирующих рост растений. Полученные данные могут свидетельствовать об участии этого лектина в регуляции ростовых процессов у растений озимой пшеницы. Показано появление лектина 61 кД у Мироновской 808 при действии соединений, повышающих морозоустойчивость растений. Этот факт позволяет говорить о важной роли данного белка в формировании морозоустойчивости озимой пшеницы.

Сравнительная характеристика локусов *FRIGIDA* у культурных видов *Brassica*

Фадина Оксана Алексеевна

*ВНИИ сельскохозяйственной биотехнологии Россельхозакадемии, Москва, Россия
fadinaokcaha@gmail.com*

В регуляции перехода арабидопсиса к цветению под влиянием пониженных температур (вернализации) участвуют гены *FLOWERING LOCUS C* и *FRIGIDA (FRI)*, и взаимодействие сильных и слабых аллелей этих генов во многих случаях определяет время зацветания. Культурные виды *Brassica* представлены однолетними и двулетними жизненными формами, которые сильно различаются по времени зацветания. Несмотря на огромное экономическое значение этих растений, ген *FRI* у этих видов недостаточно изучен. Мы клонировали последовательности *FRI* из геномов диплоидных видов *B. rapa* (геном AA), *B. nigra* (BB) и *B. oleracea* (CC) и тетраплоидных видов *B. carinata* (BBCC), *B. juncea* (AABB) и *B. napus* (AACC) и сопоставили их с геномными и кДНК последовательностями из нескольких баз генетических данных. В отличие от арабидопсиса, у *Brassica* этот ген представлен двумя локусами — *FRI.a* и *FRI.b*. В пределах одного локуса и одного генома нуклеотидные последовательности *FRI* были сходны на 95–99 %, внутри каждого локуса при сравнении геномов А и С — на 87–94 %, а сходство последовательностей, принадлежащих двум разным локусам, в пределах одного генома не превышало 80 %. По своему строению ген *FRI.a Brassica* не отличается от *FRI A. thaliana*. Как и у арабидопсиса, белок FRIGIDA принадлежит к функциональному классу I, однако у *Brassica* характерная для FRIGIDA арабидопсиса биспиральная структура всегда встречается только в С-концевой части белка и отсутствует в N-концевой части белка у большинства гомологов FRIGIDAa. Последовательности *FRI* из диплоидных видов *B. rapa* и *B. oleracea* сохраняются в субгеномах А и С тетраплоидных

видов *B. carinata*, *B. juncea* и *B. napus* (96-99 % сходства). Филогенетический анализ консервативного домена *FRI.a* различает в семействе Brassicaceae два кластера, соответствующие линиям I (Camelineae) и II (Brassicaceae), а внутри последнего — последовательности, принадлежащие линиям *Brassica A/C* и *B*. Вероятно, дупликация локусов *FRI* и их дивергенция предшествовали видообразованию в роде *Brassica*.

**Нет перекрытия функций рецепторов этилена
в контроле пролиферации культивируемых клеток**

Фоменков Артём Алексеевич

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия

artem.fomenkov@gmail.com

Фитогормон этилен влияет на многие процессы в растениях, включая прорастание семян, старение органов, созревание плодов, гравитропизм и др. Что касается роли этилена в контроле пролиферации клеток растений, то имеющиеся данные весьма немногочисленны и противоречивы. Кроме того, активно исследуется вопрос о перекрытии или уникальности функций отдельных изоформ рецепторов этилена в формировании того или иного фенотипа (например, у *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. пять изоформ). Для решения указанных задач мы использовали впервые полученные нами стабильно растущие суспензионные культуры клеток *A. thaliana* дикого типа и этилен-нечувствительного мутанта *etr1-1*, у которого рецептор ETR1 не способен связывать этилен. Колбы с суспензиями клеток закрывали бумажными фильтрами, помещали в газовые колокола, в которые вводили этилен (20 мкл/л), 1-метилциклопропен (1-МСП, 50 нл/л) — ингибитор связывания этилена с его рецепторами и смесь этих газов. Всю “конструкцию” устанавливали на качалку. Этилен немного повышал индекс роста (на 14 %) суспензии клеток дикого типа и в два раза у клеток мутанта, у всех суспензий 1-МСП и смесь этилена с 1-МСП снижали индекс роста на 20 % и 10 % соответственно. Доля ядер, синтезирующих ДНК (включение 5-этинил-2'-дезоксинуридина, выявляемое в Click-iT реакции с азидом Alexa Fluor 488) увеличивалась на 25 % под действием этилена в клетках *etr1-1* и у всех суспензий уменьшалась на 25–30 % в присутствии 1-МСП, при этом этилен частично снимал негативный эффект 1-МСП. Кроме того, ингибитор связывания этилена с рецепторами влиял на цитодифференцировку. Обычно в стандартных условиях выращивания культивируемые клетки *etr1-1* формируют трахеальные элементы, а в присутствии 1-МСП их количество возрастало в два раза. Таким образом, этилен позитивно влияет на пролиферацию культивируемых клеток *A. thaliana*, а наличие наиболее выраженного положительного эффекта этилена и отрицательного эффекта 1-МСП для клеток мутанта, у которых рецептор этилена ETR1 не способен связывать молекулы этих газов, указывает на вовлечённость в контроль пролиферации других рецепторов этилена.

Работа частично поддержана грантами РФФИ № 11-04-01225 и № 11-04-01006.

Возможность участия цианобактерий в эволюции гормональной системы растений

Шевченко Галина Васильевна

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия

gshevchenko@mail.ru

Общепринято, что хлоропласты произошли в результате эндоцитоза древних фотосинтезирующих цианобактерий в эукариотическую клетку. Хлоропласты являются одной из главных мишеней действия фитогормонов, поэтому активация цитокининами их биогенеза и ингибирование этого процесса абсцизовой кислотой (АБК) хорошо изучены. В хлоропластах были обнаружены цитокинин-связывающие белки (ЦСБ), участвующие в гормон-зависимой регуляции транскрипции, и АБК-связывающие белки (АСБ). Данные о наличии у цианобактерий гормональной системы или ее элементов долгое время отсутствовали. В последние годы в цианобактериях были идентифицированы эндогенные цитокинины и АБК, и показано влияние *транс*-зеатина на синтез РНК-полимеразы. В нашей работе впервые показано наличие ЦСБ с молекулярной массой 67 кДа в клетках *Synechocystis* sp. PCC 6803. Выделение ЦСБ67 *Synechocystis* проводили с помощью аффинной хроматографии и методом

иммуноаффинной хроматографии на сефарозе с иммобилизованными моноклональными антителами (Ат) к ЦСБ массой 70 кДа кукурузы. Идентификацию ЦСБ проводили с помощью антиидиотипических Ат к *транс*-зеатину, которые являются Ат к цитокинин-связывающему сайту белка. Для ЦСБ67 *Synechocystis* было показано его избирательное взаимодействие с *транс*-зеатином. Установлена активация в присутствии *транс*-зеатина и ЦСБ67 тотальной транскрипции *in vitro* в лизате цианобактерий. ЦСБ *Synechocystis* активировал транскрипцию в лизате хлоропластов листьев ячменя, а ЦСБ хлоропластов ячменя, как было показано ранее, участвовал в цитокинин-зависимой транскрипции в лизате клеток *Synechocystis*. Полученные результаты свидетельствуют, что ЦСБ *Synechocystis* имеет большое сходство с ЦСБ растений и может участвовать в гормон-зависимой регуляции транскрипции и цианобактерий и хлоропластов. Наряду с ЦСБ в клетках цианобактерий были выделены и АСБ с массами 23, 50, 60 и 67 кДа. Среди АСБ *Synechocystis* с помощью иммунологического анализа был выявлен гомолог АСБ люпина желтого Сір2.1, который кодируется АБК-регулируемым геном. Это говорит о высокой консервативности семейства белков Сір и присутствии его представителей у цианобактерий и высших растений. Была установлена активация транскрипции *in vitro* в лизате цианобактерий в присутствии АСБ *Synechocystis*. Это указывает на присутствие у цианобактерий молекулярных мишеней действия АБК, что представляет интерес с эволюционной точки зрения. Полученные результаты указывают на возможность привнесения в растительную клетку регуляторных систем цитокинина и АБК с древними цианобактериями — предшественниками хлоропластов.

Работа частично поддержана грантами РФФИ №11-04-01008 и №10-04-00594.

Адаптивные реакции растений на низкоинтенсивное ЭМИ

Шиш Светлана Николаевна

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Беларусь

cazonovacv@mail.ru

В последнее время применение СВЧ ЭМИ для предпосевной обработки растений принимает все большие масштабы из-за выраженного стимулирующего их действия на ростовые процессы растений, однако специфические механизмы ЭМИ до конца не изучены. С целью выяснения характера адаптивных реакций растений *Calendula officinalis* к СВЧ ЭМИ различной интенсивности оценивались сдвиги в характере морфологических и физиолого-биохимических процессов в ходе онтогенеза. Для этого были проведены многочисленные полевые и лабораторные опыты, в результате которых получены данные об энергии прорастания, всхожести, морфологических параметрах, активности антиоксидантных ферментов и уровне ПОЛ у растений *Calendula officinalis*, подвергнутых ЭМИ. Контролем служили не обработанные растения. Эффект действия оценивался от обработки СВЧ ЭМИ 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 результате установили, что адаптивные реакции растения в ответ на ЭМИ разной интенсивности в конечном итоге проявляются в изменении всхожести и энергии прорастания растений, которые зависят от особенностей семенных покровов и химического состава семян. Максимальную скорость набухания имели семена прошедшие обработку Режимом 2, как следствие они имели большую энергию прорастания и всхожесть. Однако основную роль в адаптивных реакциях играют сдвиги биохимических процессов в начале роста, связанные с активностью антиоксидантных ферментов, с уровнем аскорбиновой кислоты и продуктов ПОЛ. Таким образом, ЭМИ разной интенсивности с одной стороны, они ускоряют биохимические процессы, позволяя растениям лучше противостоять негативным факторам среды, и как следствие повышают всхожесть и морфометрические параметры у *Calendula officinalis* (Режим 2), с другой, вызывают снижение ферментативной активности и замедление ростовых процессов (Режим 3). Поэтому частота, мощность и продолжительность ЭМИ должны корректироваться с учетом реакции конкретного растения на воздействие и ожидаемого эффекта от данного воздействия.

Cl⁻/H⁺-антипортер галофита *Suaeda altissima* (L.) Pall

Шувалов Алексей Витальевич

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия

laurisen1243@mail.ru

Исследование посвящено функциональной идентификации и изучению свойств Cl⁻/H⁺-антипортера у галофита *Suaeda altissima*. Cl⁻/H⁺-антипортер относится к семейству мембранных белков CLC (chloride channel) члены которого выполняют важные функции у многих живых организмов. Идентифицировали Cl⁻/H⁺-антипортер путем регистрации ΔpCl-зависимого переноса H⁺ через мембрану, используя два разных метода. С помощью одного из них ΔpCl-зависимый транспорт H⁺ наблюдали по изменению дифференциальной абсорбции индикатора ΔpH акридинового оранжевого. Другой метод был основан на регистрации ΔpCl-зависимого защелачивания везикулярного люмена по возрастанию интенсивности флуоресценции рН-индикатора пиранина, предварительно загруженного в везикулы. Этот метод позволяет количественно определять изменения рН внутри везикул. Электрогенный характер Cl⁻/H⁺-обмена был показан с помощью индикатора трансмембранного электрического потенциала (Δψ) сафранина О. Внесение Cl⁻ в среду приводило к генерации отрицательного Δψ, величина которого зависела от сопутствующего катиона. Такой потенциал может быть движущей силой переноса H⁺ из среды внутрь везикул. Однако при внесении Cl⁻ с разными катионами во всех случаях наблюдалось защелачивание люмена. Полученный результат говорит о том, что наблюдавшееся ΔpCl-зависимое защелачивание люмена осуществляется Cl⁻/H⁺-антипортером. Это подтверждается также чувствительностью Cl⁻/H⁺-обмена к ингибитору анионных транспортеров DIDS (IC₅₀ = 7 мкМ). Cl⁻/H⁺-обмен обнаружил рН-зависимость с оптимумом рН 7,5, что близко рН цитоплазмы. Разделение мембран в непрерывном градиенте плотности йодиксанола и определение активностей ферментов-маркеров мембранных фракций показал приуроченность Cl⁻/H⁺-обмена к аппарату Гольджи. Предполагается что эндосомы образующиеся из аппарата Гольджи и локализованный в них Cl⁻/H⁺-антипортер вовлечены в загрузку тонопласта ионами Cl⁻, что должно иметь важное значение в хлоридном гомеостатировании цитоплазмы при засолении.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 12-04-00987-а.