

## **Изучение влияния некоторых фитогормонов на прорастание семян растений тау-сагыза (*Scorzonera tau-saghyz* Lipsch. et Bosse)**

**Альнурова Айзада Алтаевна, Капытина Анастасия Иосифовна**

*Казахский национальный университет имени аль-Фараби,  
Факультет биологии и биотехнологии, Казахстан, Алматы  
E-mail: 94.aiz@mail.ru*

Козелец тау-сагыз - *Scorzonera tau-saghyz* Lipsch. et Bosse (по казахски тау-сагыз) – редкий и исчезающий, эндемичный вид, перспективный каучуконос, способный накапливать в корнях до 40% каучука. Запасы вида сильно сократились в предвоенные и особенно в военные годы (1941-1945гг.), когда было выкопано более 12 млн. корней, сухим весом около 908т. (250-300 т каучука) - вклад Казахстана в дело обороны страны. В последние годы интерес к этому растению вырос, и сейчас ведутся научно-исследовательские работы по восстановлению численности данного вида, а также по разработке эффективных и рентабельных биотехнологий получения коммерческого каучука из корней *S. tau-saghyz*. Целью данной работы являлось изучение влияния фитогормонов на прорастание семян растений *S. tau-saghyz* для предварительной оценки и выявления механизмов вывода из состояния покоя семян.

Объектом исследования являлись дикорастущие формы растения тау-сагыз собранные на территории Каратауского государственного природного заповедника, расположенного на территории Южно-Казахстанской области, в горах Сырдарьинского Каратау. Семена тау-сагыза стерилизовали 5% раствором гипохлорида натрия 7 мин. и промывали 3 раза дистиллированной водой. Промытые семена, размещали (по 20 шт.) на стерильные чашки Петри с влажной подложкой из фильтровальной бумаги, которые предварительно автоклавировали в течение 40 мин. при 1,5 атмосферах. В эксперименте использованы различные концентрации фитогормонов – гиббиреловая кислота (ГК - 0,1мг/л), бензиламинпурин (БАП - 1мг/л) и индолил-3-уксусная кислота (ИУК – 0,1мг/л). Эксперимент проведен в 4 вариантах: 1 – без внесения гормонов - контроль (К); 2 – с внесением ГК+БАП+ИУК; 3 - ГК+БАП; 4 - ГК. Первоначально вносили по 15 мл раствора в каждую чашку Петри в соответствии с вариантом эксперимента, контроль – только дистиллированная вода. Полив осуществляли дистиллированной водой. Опыт проведен в трехкратной повторности, в течение 35 дней.

Проведенные исследования показали, что фитогормоны способствовали некоторому повышению всхожести семян *S. tau-saghyz*. Так, если в контроле процент прорастания семян составил в среднем  $33,6 \pm 0,5$  %, то в варианте с внесением ГК –  $38,8 \pm 0,4$  %. Наиболее высокие показатели данного параметра были выявлены в вариантах опыта с внесением ГК+БАП и ГК+БАП+ИУК – в среднем по  $40,5 \pm 0,5$  %.

Таким образом, добавление фитогормонов может положительно воздействовать на прорастание семян, повышая энергию прорастания и процент их всхожести в основном у отобранных качественных семян независимо от вариантов использованных фитогормонов. Аналогичные опыты, проведенные с отбракованными семенами, заметных положительных результатов не дали. При этом, наиболее перспективно при проращивании семян использование смесей гормонов ГК+БАП и ГК+БАП+ИУК.

Полученные данные могут быть использованы при оптимизации методов проращивания семян *S. tau-saghyz* в лабораторных и природных условиях, а также найти свое применение в ходе разработки эффективных рентабельных технологий культивирования данного вида с целью получения коммерческого каучука.

## **Особенности восстановления *in vitro* растений рода *Rubus* после криосохранения апикальных меристем**

**Балекин Андрей Юрьевич.**

*Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Россия, Москва,  
e-mail: aub46@rambler.ru*

Создание криобанков наиболее экономичный способ долговременного сохранения разнообразного растительного материала. В связи с этим изучали особенности посткриогенного восстановления роста *in vitro* культур ежевики и малины красной. Растения ежевики сортов Агавам и Торнфри и растения малины сорта Скрамница размножали на питательных средах № 1 (0,2 мг/л тидиазурона и 0,1 мг/л ИМК) или № 2 (2 мг/л БАП и 0,1 мг/л ИМК) при 20-25°C, 16 часовом дне и 5-8 клк освещённости. Размноженные побеги на средах с 60 г/л сахарозы, 0,01 мг/л ИМК и 0,02 мг/л тидиазурона или 0,2 мг/л БАП адаптировали к холоду 4 недели при 2°C, 4 часовом дне и 2-3 клк освещённости. Апексы (1–2 мм), изолированные из адаптированных к холоду побегов, на 48 часов помещали на среды с 0,8 М сахарозы, а затем, на полосках стерильной фольги 4 часа подсушивали в потоке воздуха ламинар-бокса. Дегидратированные апексы в криоампулах замораживали в жидком азоте без применения программируемого оборудования и токсичных криопротекторов (патент РФ № 2302107). После 1 часа криосохранения проводили оттаивание, регидратацию и восстановление роста меристем при комнатной температуре на питательных средах, дополненных 0,05 мг/л тидиазурона или 0,5 мг/л БАП. Через месяц регистрировали долю апексов, восстановивших рост. У ежевики сорта Торнфри 12% меристем имели признаки роста. Для ежевики сорта Агавам этот показатель превышал 30%, а для малины сорта Скрамница 35%. В основании некоторых побегов, перенесённых со сред восстановления на среды для размножения, формировались каллусы. Через два месяца культивирования на среде № 2 признаки каллусообразования отсутствовали у более половины побегов всех трёх клонов. Однако на среде с тидиазуроном, из-за роста каллуса, не удалось получить активно растущих побегов ни у одного из испытанных клонов. Показано, что для предотвращения каллусообразования при посткриогенном восстановлении роста меристем рода *Rubus* необходимо оптимизировать состав питательных сред и несколько модифицировать протокол замораживания, используемый для криосохранения меристем малины и ежевики.

*Работа поддержана программой «Живая природа» президиума РАН.*

### **Роль кальция в регуляции экспрессии генов у цианобактерии *Synechocystis* в условиях холодогового и солевого стресса.**

***Бачин Дмитрий Вячеславович***

*Лаборатория молекулярных основ внутриклеточной регуляции,  
Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, РФ, Москва,  
E-mail: dbachin@gmail.com*

Ионы кальция, выступая в качестве вторичного месседжера, являются важным регулятором множества клеточных процессов в живых организмах. Роль Ca<sup>2+</sup>-сигналинга в клетках прокариот остается мало изученной. В частности, не понятна роль кальция в передаче стрессовых сигналов у цианобактерий.

В работе проводилось изучение двух групп стресс-индуцируемых генов цианобактерии *Synechocystis sp.* PCC 6803. Регуляция экспрессии генов первой группы осуществляется через двухкомпонентную систему, связанную с гистидинкиназой Nik33; для генов второй группы механизмы регуляции стресс-зависимой экспрессии неизвестны. В работе использовалось сочетание методов ингибиторного анализа и обратной транскрипции с последующей полимеразной цепной реакцией (ОТ-ПЦР). Ингибиторный анализ проводился с применением ингибитора кальциевых каналов Верапамила, агониста кальциевых каналов Bay K 8644 и кальциевого ионофора A23187.

В ходе исследования выявлено снижение стресс-индуцируемой экспрессии практически всех исследуемых генов (*rbpA*, *crhR*, *hliB*, *sigD*, *rpl3*, *rpoA*, *ndhD2*) под воздействием ингибитора и агониста кальциевых каналов, а также кальциевого ионофора. Полученные результаты свидетельствуют о возможном участии кальция в регуляции транскрипции этих генов. Эффект снижения экспрессии из-за

противоположно-действующих факторов может иметь несколько объяснений. Во-первых, усиление экспрессии генов может происходить при определённом диапазоне значений внутриклеточной концентрации кальция. В этом случае как слишком низкие, так и слишком высокие концентрации кальция могут приводить к подавлению экспрессии генов. Во-вторых, возможно осуществление регуляции экспрессии при помощи так называемых *кальциевых рочерков*, нарушение которых может вызывать любой фактор, изменяющий внутриклеточную концентрацию кальция.

Также стоит отметить, что среди найденных кальций-зависимых генов присутствовали как регулируемые через гистидинкиназу Nik33, так и имеющие неизвестные механизмы регуляции. Этот факт говорит о возможности участия ионов кальция в разных регуляторных системах.

Таким образом, показано, что кальций играет важную роль в регуляции экспрессии стресс-зависимых генов у цианобактерии *Synechocystis* и может быть частью различных регуляторных систем.

### **Исследование динамики изменения фитогормонального статуса проростков ячменя после гамма-облучения семян в стимулирующих дозах**

*Битаршвили София Валерьяновна*  
*ФГБНУ ВНИИРАЭ, Россия, Обнинск*  
*Bitarishvili.s@gmail.com*

Рост и развитие растений, помимо генетической программы, зависят от интеграции многочисленных сигналов внешней и внутренней среды. Фитогормоны являются основными эндогенными факторами, которые регулируют не только морфогенетические процессы, но и адаптивные реакции растений. Именно адаптивные реакции представляют большой интерес для радиобиологии, так как в основе повышения продуктивности растений с помощью ионизирующих излучений лежит явление радиационного гормезиса, проявляющийся в стимулирующем эффекте малых доз облучения. Установлено, что положительный эффект дает предпосевное облучение семян. В этом случае ионизирующее излучение стимулирует прорастание и увеличение процента всхожести семян. Однако, существует проблема невоспроизводимости данного эффекта в полевых экспериментах, решение которой является одной из ключевых задач радиобиологии.

Основным механизмом регуляции прорастания семян является антагонистическое взаимодействие между двумя фитогормонами: абсцизовой кислотой и гиббереллинами. Лишь определенный баланс фитогормонов приводит к прорастанию семени. При воздействии на семя внешним агентом, этот баланс меняется, что может привести к задержке прорастания, гибели, или, в случае стимуляции, к увеличению энергии прорастания и процента всхожести семян.

Для идентификации фитогормонов: ауксинов, цитокининов, гиббереллинов, абсцизовой кислоты и их количественного определения мы использовали метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Пробоподготовка включала фиксацию растительного материала в жидком азоте ( $T=-160^{\circ}\text{C}$ ), многоступенчатую экстракцию и очистку от примесей. Полученный супернатант пропускали через предколонку с обращенной фазой C-18. Проба объемом 10 мкл проходила через обращено-фазовую колонку C-18 (150 мм длина, 2,1 мм диаметр). В качестве растворителя мы использовали метанол и 0,1% водный раствор уксусной кислоты. Для полноты разделения веществ и точности их определения растворитель подавали по системе градиентного элюирования со скоростью потока 0,3 мл/мин при  $35^{\circ}\text{C}$ .

Мы считаем, что исследование фитогормонального статуса в динамике прорастания семян ячменя после гамма-облучения в стимулирующих дозах может помочь более точно понять механизм радиационного гормезиса и, как следствие,

приблизить нас к решению проблемы невоспроизводимости эффекта путем подбора оптимальной схемы облучения.

**Активность аллелопатических веществ борщевика Сосновского (*Heracleum sosnowskyi* Manden) при выращивании некоторых культурных и лекарственных растений**

***Бударин Сергей Николаевич***

*Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А.*

*Тимирязева, агрономический факультет, Россия, Москва*

*E-mail: snegin20000@rambler.ru*

Борщевик Сосновского по мнению многих авторов обладает инвазивностью, т.е. агрессивностью к другим видам растений, вытесняя аборигенную флору. Обладая массивным габитусом и стремительным развитием надземных органов, большой семенной продуктивностью борщевик в течении нескольких лет заполняет огромные территории. Борщевик содержит активные вещества - фуранокумарины, такие как бергаптен, изопимпинеллин, ксантотоксин. Эти вещества обладают различным действием на другие организмы.

В нашей работе мы провели ряд исследований по влиянию препарата «аммифурин», содержащий фуранокумарины (бергаптен, изопимпинеллин, ксантотоксин) и водного экстракта борщевика на рост и развитие растений ярового овса.

В результате мы получили следующие данные. В опыте с экстрактом борщевика растения овса уступали к контрольным растениям в развитии стебля и образовании зерен в метёлке. И слабое угнетение в развитии корня после обработки водным экстрактом борщевика. В опыте с препаратом «аммифурин» мы выявили стимулирующий эффект на образование количество зерен в соцветии – 29 по отношению к контрольным растениям – 19,2. Также биомасса соцветий отличалась явным положительным эффектом при опрыскивании препаратом «аммифурин» - 1,08г, тогда как в контрольных растениях (опрыскивание H<sub>2</sub>O) – 0,71г. Масса 1000 зерен уступало в обоих вариантах контрольным растениям и составило: контроль – 23,5г, экстракт борщевика – 22,8, препарат «аммифурин» - 20,4г.

Полученные данные показывают, что водные экстракты и активные фуранокумарины борщевика обладают и положительными свойствами, стимуляцией развития биомассы стебля и корня, а также технически важного показателя – масса 1000 зерен, что было показано в обработке с препаратом «аммифурин».

Наше практическое предложение состоит в том, чтобы обратить внимание на проблему распространения борщевика в позитивном направлении. Его побеги и плоды можно использовать как сырье в защите растений, а также как фитогормональные препараты, в фармацевтике в лечении витилиго, ожогов и других кожных заболеваний. Сок борщевика может иметь практическое применение как ингибитор, использоваться для приготовления натуральных фитогербицидов, применение которых не будет нарушать экологию агроценоза.

*Автор выражает благодарность научному руководителю. д.б.н., профессору М.Н.Кондратьеву*

**Влияние различных типов освещения на накопление пигментов в базилике.**

***Васильева Юлия Владимировна***

*РГАУ-МСХА им. К.А.Тимирязева, Россия, Москва*

*marilyncola95@mail.ru*

Базилик входит в число наиболее востребованных зеленых культур, выращиваемых в защищенном грунте круглогодично. Вместе с тем, в осенне-зимний период из-за низкой солнечной активности необходимо дополнительное освещение растений. В настоящей работе мы изучали воздействие различного спектрального

состава света на накопление пигментов в растениях базилика. Для опыта были взяты краснолистные и зеленолистные сорта базилика, в которых измеряли количественное содержание пигментов.

Для опыта были использованы красные светоизлучающие диоды, натриевая газоразрядная лампа, белые светоизлучающие диоды (СИД) и красно-синие светоизлучающие диоды. Было взято четыре пробы растений, выращенных в различных условиях освещения с интервалом 7-10 дней. В онтогенезе мы наблюдали сначала низкое содержание пигментов не зависимо от условий освещения, а затем резкий скачок и медленный спад. Так же под влиянием различных типов освещения наблюдалось количественное различие пигментов. Содержание хлорофиллов *a* и *b* в сортах «Фиолетовый» и «Красный Рубин» было наибольшим под лампами СИД красный + синий и СИД белый. Содержание каротиноидов в сортах «Фиолетовый» и «Красный Рубин» было наибольшим под лампами СИД красный + синий, а также СИД белый. Содержание антоцианов в сорте «Красный Рубин» было наибольшим в вариантах выращивания под лампами СИД красный и СИД красный+синий. Содержание антоцианов в сорте «Фиолетовый» было наибольшим в вариантах выращивания под лампой СИД красный+синий, а так же под лампами СИД белый и СИД красный. Содержание бета-каротина у сорта «Красный Рубин» мы определили наибольшее под СИД красный+синий. Таким образом, в ходе опыта была установлена закономерность количественного содержания пигментов от спектрального состава света. Можно сделать вывод, что в качестве дополнительного источника освещения лучше всего использовать светодиоды, которые также являются экономичными источниками света.

### **Влияние регуляторов полярного транспорта ауксина на реорганизацию актинового цитоскелета в ходе гравитропической реакции корней арабидопсиса**

*Гобова Анна Евгеньевна*

*Санкт-Петербургский государственный университет,*

*биологический факультет, Россия, Санкт-Петербург*

*E-mail: anna.gobova@gmail.com*

Гравитропизм — это направленный рост органов растения относительно вектора силы тяжести. Считается, что направление роста задает градиент концентрации ауксина, который транспортируется полярно благодаря активности переносчиков PIN. Ранее, были получены данные о реорганизации актинового цитоскелета в ходе гравитропической реакции. Целью настоящей работы являлось изучение влияния регуляторов полярного транспорта ауксина на переориентацию актиновых микрофиламентов в ходе гравитропической реакции корней арабидопсиса.

Объектом исследования служили 7-суточные проростки *Arabidopsis thaliana* (L.) - Heunh., экотип Columbia 0, трансформированные конструкцией GFP-fABD2. Актиновый цитоскелет визуализировали с помощью конфокального микроскопа Leica TCS SPE (объектив 40X, лазер 535 нм); угловое распределение микрофиламентов получали с помощью программы Microfilament Analyzer.

Актиновый цитоскелет был выявлен во всех исследованных типах клеток в кончике корня от апикальной меристемы до зоны растяжения. В вертикально (*v*) и горизонтально (*g*) ориентированных корнях, обработанных раствором этифона, который является продуцентом этилена, происходило укорочение и фрагментация актиновых микрофиламентов. Обработка корней (*v*, *g*) антагонистом этилена - салициловой кислотой ( $10^{-5}$  М) приводила к появлению наклонных и поперечно ориентированных микрофиламентов.  $\text{Ca}^{2+}$ -хелатор EGTA ( $10^{-5}$  М) вызывал избыточную полимеризацию актина в корнях (*v*, *g*), сопровождавшуюся появлением всех вариантов ориентации актиновых микрофиламентов: аксиальных, продольных и поперечных.

По результатам работы сделаны следующие выводы: регуляторы полярного транспорта ауксина изменяют характер перестройки актинового цитоскелета,

индуцированной гравистимуляцией. Этефон вызывает фрагментацию цитоскелета и уменьшение яркости флуоресценции (по сравнению с контролем). Салицилат ускоряет реорганизацию цитоскелета.  $\text{Ca}^{2+}$ -хелатор EGTA нарушает нормальное для вертикального роста ( $v$ ) угловое распределение микрофиламентов с доминированием аксиальной и наклонной ориентации.

*Работа выполнена при финансовой поддержке СПбГУ (М.2, проект 1.38.233.2014 «Механизмы ориентации растений в пространстве относительно вектора силы тяжести») и РФФИ (проекты 14-04-01624 — Клеточные основы полярного роста растений и 15-04-04075 — Роль клеточных стенок в контроле гравитропизма растений) с использованием оборудования Ресурсного центра «Развитие молекулярных и клеточных технологий» СПбГУ.*

### **Сравнительное изучение кремнийорганических регуляторов роста в связи с видо- и сортоспецифичностью**

***Голубева Анастасия Сергеевна, Гузакова Д.М.***

*Вологодский государственный университет, Россия, Вологда*

*e-mail:zejsler@yandex.ru*

В XX в. была установлена способность кремния образовывать биологически активные соединения (силатраны), которые при поступлении в живые организмы оказывают регулирующее влияние на важнейшие метаболические процессы. На основе силатранов разработан ряд регуляторов роста и развития растений, которые отличаются эффективностью, технологической простотой получения, доступностью исходного сырья и не имеют аналогов за рубежом.

Целью работы являлось изучение влияния кремнийорганических (силатрановых) регуляторов роста на биологическую и хозяйственную продуктивность ячменя обыкновенного и овса посевного. Использовали препараты черказ (1-хлорэтилсилатран), «Энергия» (4-хлорметилсилатран), мивал (1-хлорметилсилатран) и экспериментальные препараты, представляющие смеси 1-этилсилатрана и крезацина в различном соотношении (Ч-4, Ч-9, Ч-11). Исследования проводились на учебно-опытном поле университета в условиях полевого мелкоделяночного опыта. Объектами являлись районированные в Вологодской области сорта овса посевного Фухс и ячменя обыкновенного сорт Выбор. Поводили предпосевную обработку семян и опрыскивание растений в фазу кущения. Контрольные растения обрабатывали водой. Определяли морфометрические показатели, структуру урожая (озерненность, массу зерна с растения, массу 1000 зерен), коэффициент хозяйственного использования ( $K_{\text{хоз}}$ ).

Регуляторы роста оказали значительное влияние на сырую и сухую биомассу растений, массу зерна с растения. В меньшей степени обработка регуляторами роста повлияла на процесс кущения. Наблюдалась общая реакция обеих зерновых культур. Так, после обработок препаратами «Чеказ 1», «Черказ 2» и «Черказ 11» прирост биомассы побега и зерновой продуктивности наблюдался в большей степени.

Кроме того, проявилась специфика ответных реакций растений в зависимости от химической природы кремнийорганических веществ – компонентов регуляторов роста, биологических особенностей исследуемых видов.

### **Лен масличный – перспективная культура для биотехнологических исследований**

***Горчакова Юлия Александровна***

***Назаренко Людмила Владимировна***

***Гончарук Евгения Александровна\****

*ГБОУ ВО МГПУ ИМИЕН, Россия, Москва \* ИФР РАН, Россия, Москва*

*Juliet-gorchakova@yandex.ru*

Лен масличный (*Linum usitatissimum*) относится к семейству *Linaceae*. Его возделывают для получения масла и вторичных продуктов переработки - жмых, льносолома. Кроме того лен масличный является перспективной культурой для биотехнологических исследований.

Целью исследования являлся подбор условий для культивирования льна масличного в условиях *in vitro*, а также сравнение морфологических и физиолого-биохимических характеристик стерильных проростков и полученных из них каллусных культур.

Проростки *Linum usitatissimum* получали из стерильных семян, помещенных на безгормональную питательную среду Мурасиге-Скуга (МС), содержащую сахарозу (2%). Для индукции каллусогенеза фрагменты гипокотилей стерильных проростков культивировали на питательной среде МС, содержащей сахарозу (2%) и гормон ауксинового типа 2,4-Д (1 мг/л).

Изучение морфологических показателей *in vitro* проростков льна масличного свидетельствуют об их нормальном росте и развитии растений льна. Согласно наблюдениям, они близки к характеристикам проростков, выращиваемых в условиях *in vivo*. В проростках и каллусных культурах льна определяли содержание фенольных соединений. В каллусных культурах их количество было на 36% меньше, чем в проростках. При этом содержание фенолпропаноидов в каллусной культуре составило 0,57 мг/г, что было выше, по сравнению с их количеством в проростках льна (0,18 мг/г). Кроме того, в каллусах содержание флавоноидов составило 0,76 мг/г, тогда как в проростках льна - 4,52 мг/г.

Для предотвращения процесса разрушения органических молекул свободными радикалами кислорода, функционирует система ингибирования перекисного окисления липидов (ПОЛ). Изучая содержание малонового диальдегида (МДА), как важного показателя уровня ПОЛ, можно отметить, что в интактных растениях оно превышало таковой у каллусной ткани почти в 2 раза.

Таким образом, использование биотехнологических подходов позволило получить стерильные проростки льна масличного в условиях *in vitro* на питательной среде МС. Обсуждаются выявленные отличия в физиолого-биохимических характеристиках каллусных культур и проростков льна, проявляющиеся в уровне перекисного окисления липидов и содержании различных представителей фенольного метаболизма (фенилпропаноидов и флавоноидов).

### **Влияние низкоинтенсивного электромагнитного излучения на активность амилазы и ростовые процессы гречихи тетраплоидной на начальных этапах онтогенеза**

***Еловская Нинель Анатольевна***

*Белорусский государственный педагогический университет им. Максима Танка,*

*Республика Беларусь, Минск*

*tytsi\_92@mail.ru*

На сегодняшний день одной из актуальных проблем, которая стоит перед сельскохозяйственными производителями является повышение урожайности и устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды, в том числе резистентности к различным заболеваниям. В Республике Беларусь в последнее время активно изучается и применяется физическая обработка семян, а именно электромагнитное излучение (ЭМИ), получившее немало позитивных отзывов. В качестве объекта исследования была выбрана гречиха посевная тетраплоидная (*Fagopyrum sagittatum gilib*) сортов Илия и Анастасия, урожай которой в условиях нашей страны достаточно невысокий. Обработка семян низкоинтенсивным ЭМИ СВЧ-диапазона производилась в НИИ Ядерных проблем БГУ в трех режимах: Режим 1 (частота обработки 54-78 Гц, время обработки 20 минут), Режим 2 (частота обработки 64-66 Гц, время обработки 12 минут), Режим 3 (частота

обработки 64-66 Ггц, время обработки 8 минут). В ходе исследования оценивались: активность амилазы, энергия прорастания, всхожесть и ростовые процессы. Результаты опыта были обработаны с помощью пакета статистических программ Microsoft Excel.

Фермент амилаза на начальных этапах прорастания растений имеет важное значение. Она обеспечивает растений необходимым запасом питательных веществ, который требуется для прорастания и перенесения негативных воздействий окружающей среды. При нормальном последовательном развитии активность амилазы имеет среднее значение, что свидетельствует о нормальном развитии. Если же активность амилазы снижается, то можно говорить о нехватке субстрата для расщепления. Активность амилазы изучали на 3-хдневных проростках по модифицированному нами методу на основе методов. У сорта Илия: под действием Режимов 2 и 3 активность амилазы снижается по сравнению с контролем на 24% и 51,2% соответственно. Под действием Режима 1 показатель активности амилазы возрос по сравнению с контролем на 8,5%. У сорта Анастасия под действием всех трех режимов наблюдались незначительные отклонения показателей активности амилазы по сравнению с контролем. У растений сорта Илия под влиянием трех режимов наблюдалось снижение энергии прорастания (на 4, 8 и 4%) и всхожести (на 6, 12 и 10%) по сравнению с контролем соответственно. В случае сорта Анастасия также наблюдалось снижение энергии прорастания (на 8,9, 28,6 и 78,6%) под влиянием трех режимов. Показатель всхожести под влиянием режимов 1 и 2 повысился (на 4,9, 2,4%), а под влиянием Режима 3 снизился (на 17%) по сравнению с контрольными значениями. При оценке влияния ЭМИ на ростовые процессы было отмечено торможение развития корневой системы у растений сорта Илия под действием всех режимов и активация развития надземных побегов. В случае растений сорта Анастасия наблюдалась торможение ростовых процессов подземной и надземной части проростков под влиянием трех режимов.

Таким образом, под влиянием низкоинтенсивного ЭМИ происходит активация амилазы, которая быстро мобилизует все основные запасы питательных веществ. Это негативно сказывается на дальнейшем развитии: снижается энергия прорастания, всхожесть и ростовые процессы тетраплоидной посевной гречихи.

### **Коллоидное серебро, стабилизированное полимерными гуанидинами, – стимулятор роста с фунгицидным и бактерицидным эффектом**

*Жеребин Павел Михайлович<sup>1</sup>*

*Кудринский А.А.<sup>1</sup>, Денисов А.Н.<sup>2</sup>, Гусев А.А.<sup>3</sup>, Климов А.И.<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,  
Химический факультет, Россия, Москва*

*<sup>2</sup>Группа компаний «АгроХимПром», Россия, Барнаул*

*<sup>3</sup>Тамбовский государственный университет имени Г.Р. Державина, Россия, Тамбов  
E-mail: pmzher@gmail.com*

Одним из наиболее перспективных и быстро развивающихся классов пестицидов является класс регуляторов (стимуляторов) роста растений. Эти препараты позволяют при минимальных затратах получать значительный экономический эффект, способствуя интенсификации биологических процессов в растении и лучшему усвоению питательных веществ из почвы, повышению устойчивости растений к стрессирующим факторам и к заболеваниям. Однако, до сих пор, для коммерческого использования, не было представлено универсальных и простых в применении препаратов, дающих стабильный эффект при применении в любых климатических зонах.

В рамках задачи по созданию стимулятора роста, отвечающего этим требованиям, были исследованы дисперсии наночастиц серебра, стабилизированные катионным полимером - гидрохлоридом полигексаметиленбигуанида (ПГМБ). Лабораторные и полевые (в разных климатических зонах) опыты показали высокую эффективность этих

композиций в качестве стимуляторов роста, как при обработке семян и клубней, так и при листовой обработке вегетирующих растений. Биохимические исследования, проведенные на свёкле *Beta vulgaris L.*, позволили нам сделать предположение о возможном механизме ростостимулирующего действия коллоидного серебра на растения. Измерения активности ферментов и концентраций фитогормонов показали, что серебро в очень небольших концентрациях ингибирует полифенолоксидазы, в то же время, снижение активности полифенолоксидаз ведет к увеличению концентрации аутогенных ауксинов, в разложении которых принимают участие полифенолоксидазы. Таким образом, путем косвенного воздействия на ферментную систему, серебро меняет гормональный баланс растения, что, в свою очередь, приводит к увеличению урожайности. Непрямой механизм воздействия позволяет добиться высокой эффективности применения препаратов серебра при минимальных нормах внесения.

Помимо обнаруженной нами у серебра ростостимулирующей активности, оно также является универсальным бактерицидом и фунгицидом, к которому микроорганизмы не способны вырабатывать резистентность из-за неспецифичного механизма действия. ПГМБ также обладает микробоцидной активностью. В рекомендованных для применения в качестве стимулятора роста концентрациях серебро не способно полностью заменить фунгициды, однако исследования фитосанитарного состояния семян различных культур после обработки дисперсиями наночастиц серебра, стабилизированными ПГМБ, показали, что эта обработка уничтожает до 70% фитопатогенных грибов и бактерий. Частицы коллоидного серебра способны сорбироваться на поверхности растений и семян, и, подвергаясь окислительному растворению, оказывать пролонгированное воздействие на патогены. Важным преимуществом серебра является его исключительно высокая бактерицидная активность, которой не обладают применяемые в сельском хозяйстве России фунгициды, в то время как бактериозы растений очень активно распространяются.

На базе проведенных исследований, при организационной и финансовой поддержке группы компаний «АгроХимПром», был создан стимулятор роста «Зеребра Агро», получивший государственную регистрацию в июне 2014 года. В прошлом году этим препаратом было обработано 400 тысяч гектаров посевов в России и странах СНГ.

*Автор выражает благодарность научному руководителю к.х.н. Крутякову Ю.А.*

## **Введение в культуру и оценка морфогенетического потенциала некоторых представителей рода *Sedum L.***

***Зудова Ольга Владимировна***

*Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, факультет садоводства и ландшафтной архитектуры, Россия, Москва*

*E-mail: olyachka\_94@mail.ru*

В настоящее время широко развивается декоративное садоводство: озеленение приусадебных участков, города, проектирование «зеленых крыш». В связи с этим остро встает вопрос о достаточном количестве посадочного материала тех видов растений, которые используются в подобных работах. К базовым видам относятся представители рода *Sedum L.* (очиток). Одним из современных методов размножения растений является клональное микроразмножение, позволяющее в короткие сроки получить большое количество посадочного материала. Кроме того, одним из преимуществ данного вида размножения является независимость от погодных условий и времени года.

В своей работе мы использовали следующие виды – *Sedum selskianum* Regel & Maack (Очиток Сельского) и *Sedum lydium* Boiss (Очиток лидийский).

Опыт проводился по следующей технологии – побеги взрослых растений стерилизовали в течение 3 и 5 минут в 0,1 %-ном растворе хлорида ртути (сулеме) в марлевых мешочках, затем три раза промывали в дистиллированной воде. Черенки (2 вида – с листьями и без) помещали в культуральные сосуды на питательную среду

Мурасиге и Скуга (МС) без добавления или с добавлением различных регуляторов роста: (1) МС без регуляторов роста, (2) МС + 0,5 мг/л индолил-3-уксусной кислоты (ИУК), (3) МС + 1 мг/л 6-бензиламинопурина (БАП), (4) МС + 2 мг/л БАП. Проводились периодические наблюдения и анализ данных.

Черенки очитка Сельского с удаленными листьями не выжили. Наиболее благоприятной для выращивания оказалась МС среда с добавлением ИУК в концентрации 0,5 мг/мл, а наименее – с добавлением БАП в концентрации 2мг/мл.

Для очитка лидийского наличие/отсутствие листьев не оказало влияния на показатель выживаемости. Наиболее благоприятной для выращивания оказалась МС среда с добавлением ИУК в концентрации 0,5 мг/мл и с добавлением БАП в концентрации 2мг/мл, а наименее – безгормональная среда.

Было установлено, что для введения в культуру представителей рода *Sedum* требуется обработка хлоридом ртути в течение трех минут, причем для очитка Сельского для работы можно рекомендовать использовать черенки с листьями (2-3 настоящих листа), а для очитка лидийского подходят как черенки с листьями, так и без них. Мы показали, что клональное микроразмножение асептических растений эффективно проводится на указанных выше вариантах гормонального состава питательных сред.

### **Влияние *Bacillus subtilis* штамма 9/6 на процессы адаптации микроклонов сирени к условиям выращивания *in vitro***

**Китаева Мария Владимировна.<sup>1</sup>, Кожух Т.В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Центральный ботанический сад НАН Беларуси, лаборатория прикладной биохимии, Минск, Беларусь, E-mail: [kитай\\_m@tut.by](mailto:kитай_m@tut.by)

<sup>2</sup>Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси, лаборатория роста и развития растений, Минск, Беларусь

Процесс адаптации пробирочных растений к нестерильным условиям является наиболее дорогостоящей и трудоемкой операцией, так как нередко после пересадки в почву наблюдается их гибель. Разработка и совершенствование приемов адаптации растений является актуальной задачей. Одним из способов является инокуляция субстратов бактериальными препаратами. Штамм спорообразующих бактерий *Bacillus subtilis* 9/6 был предоставлен сотрудниками Института микробиологии НАН Беларуси. В качестве субстрата для адаптации использовали смесь торфа, агроперлита и глинистых материалов, инокулированную культуральной жидкостью с бактериями. Контролем служил аналогичный субстрат без бактерий.

Объектами исследования являлись растения-регенеранты 3-х сортов сирени обыкновенной *Syringa vulgaris*. Приживаемость микрорастений сирени сорта Маршал Василевский на опытном и контрольном субстрате составила 100 %. У сортов Память о Колесникове и Маленький принц количество адаптированных микрорастений из опытного варианта достигало 96,1 % и 93,3 %, тогда как в контроле приживаемость составляла 88,5 % и 92,3 % соответственно. При инокуляции субстрата бактериями микрорастения отличались высокими темпами роста и значительным развитием листовой поверхности. После 2-х месяцев адаптации длина побегов сирени сорта Маршал Василевский из опытного варианта была выше на 0,5 см, сорта Память о Колесникове на 0,4 см и сорта Маленький принц на 0,2 см по сравнению с микрорастениями из контроля. Количество листьев на растении в опыте достигало  $9,5 \pm 0,4$  у сорта Маршал Василевский и  $8,0 \pm 0,6$  и  $6,2 \pm 0,5$  у сортов Память о Колесникове и Маленький принц, тогда как у регенерантов контрольного варианта их количество равнялось  $6,3 \pm 0,4$ ;  $5,7 \pm 0,6$  и  $5,7 \pm 0,5$  штук соответственно. У сорта Маршал Василевский из опытного варианта суммарная масса и площадь листьев увеличилась на 33% и 42% в сравнении с контрольными растениями. Концентрация фотосинтетических пигментов в

листьях микрорастений, адаптированных на инокулированном субстрате, выросла на 67%, а в пересчете на площадь листа в 3 раза по отношению к контролю.

Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования полученного штамма 9/6 бактерий *Bacillus subtilis* для успешной адаптации пробирочных растений к условиям *in vitro* и сокращения сроков получения стандартного посадочного материала.

### **Воздействие электромагнитного поля на биосинтез бав в клеточных культурах *Silybum marianum***

**Копач Ольга Викторовна<sup>1</sup>, Пушкина Надежда Викторовна<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Республика Беларусь, Минск, e-mail: olga-kopach@mail.ru,

<sup>2</sup>Институт ядерных проблем Белорусского государственного университета, Республика Беларусь, Минск, e-mail: nadyapushkina@gmail.com

Лекарственные растения являются природными источниками ценных биологически активных веществ (БАВ), которые обладают широким спектром действия. Альтернативными источниками получения БАВ растительного происхождения могут стать культуры клеток и тканей растений *in vitro*. Основным недостатком данной технологии является низкий конечный выход продукта. Вследствие этого актуальным представляется определение условий, при которых обеспечивались бы оптимальный рост клеток и высокое содержание вторичных метаболитов в биомассе. Существует ряд химических и физических способов воздействия, регулирующих биосинтез БАВ в культурах *in vitro*. В роли физического стимулятора биосинтеза БАВ может быть использована обработка культур *in vitro* электромагнитным полем сверхвысоких частот (ЭМП СВЧ). Действие ЭМП СВЧ на различные биологические объекты активно изучается в течение последних 25 лет, однако до сих пор клеточные культуры *in vitro* высших растений не рассматривались как объекты исследования. По мнению А. Х. Тамбиева и др., под действием ЭМП СВЧ в клетках водорослей происходит образование и накопление активных радикалов кислорода и перекисей, что приводит к развитию автокаталитических реакций, которые, ускоряя мембранный транспорт и интенсификацию фотосинтетических процессов, оказывают, таким образом, стимулирующий эффект на физиологические параметры фотосинтезирующих организмов. Нами сделано предположение, что такой же стимулирующий эффект ЭМП СВЧ по сходному механизму может наблюдаться и на нефотосинтезирующих организмах, в частности для калусной культуры растений, культивируемой в темноте.

Для анализов использовали каллусы *S. marianum* разной степени дедифференциации 4-го и 27-го пассажей. Обработку каллусов ЭМП СВЧ (в миллиметровом диапазоне волн, время обработки 20 мин, мощность 10 мВт) осуществляли в лаборатории радиофизических исследований Института ядерных проблем БГУ. Биологические эффекты ЭМП СВЧ каллусных культур *S. marianum* на метаболизм оценивали в сравнении с аналогичными эффектами у каллусов, не подвергнутых обработке (контроль). Экстракцию фенольных соединений проводили по методике, описанной в Государственной фармакопее Республики Беларусь

Содержание флавоноидов и оксикоричных кислот в корневом и листовом каллусах 4-го пассажа увеличивалось на 20 % по сравнению с контролем, а в стеблевом и семядольно-листовом — на 19 и 17 % соответственно. Тенденция к увеличению содержания исследуемых веществ наблюдалась и при обработке длительно пассируемого каллуса 27-го пассажа. Содержание флавоноидов в корневом каллусе возросло на 96 %, в стеблевом — на 91, в семядольно-листовом и листовом — на 81 и 60 % соответственно. При анализе содержания оксикоричных кислот наблюдалась сходная ситуация: в листовом каллусе 27-го пассажа содержание увеличивалось на 59 %, в

семядольно-листовом – на 79, в стеблевом – на 91, а в корневом – на 96 %. ЭМП СВЧ сильнее стимулировал биосинтез БАВ в «старых» сильно дедифференцированных каллусах, чем в «молодых» и сохранивших элементы дифференциации, при этом исходные уровни исследуемых БАВ у данных каллусов были одинаковыми. Возможно, каллусные клетки в состоянии полной дедифференциации лучше воспринимают внешние электромагнитные сигналы, на более высоких уровнях генерируют ответ различных радикалов и, как следствие, активируют биосинтез флавоноидов и оксикоричных кислот.

Действие ЭМП СВЧ на каллусные культуры *S. marianum* оказывает положительный стимулирующий эффект на биосинтез вторичных метаболитов в клетках. При этом длительно пассируемые каллусы более отзывчивы к воздействию ЭМП СВЧ, чем каллусы первых пассажей.

### **Изоферментный спектр супероксиддисмутазы и каталазы у растений *Arabidopsis thaliana* при действии пониженных температур**

**Кропочева Екатерина Вадимовна**

(Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, Россия, Москва, katerinakropocheva@yandex.ru)

Изменение условий внешней среды, в том числе понижение температуры, может приводить к нарушению баланса между образованием активных форм кислорода и их удалением антиоксидантными системами клетки – окислительному стрессу. Противостояние окислительному стрессу является важным для холодостойких растений механизмом защиты от действия пониженных температур. Первую линию защиты составляют ферменты, обладающие антиоксидантной активностью: супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидазы. Известно, что после воздействия пониженных температур в адаптирующем диапазоне многие виды растений приобретают устойчивость к последующему более интенсивному охлаждению. Мы поставили цель проследить, каким изменениям подвергается активность супероксиддисмутазы и каталазы в процессе закаливания.

В своей работе мы использовали растения *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh, 1842, как типичного представителя холодостойких растений. Растения закаливали при 2°C в течение 5 суток при 16 ч световом дне. Изоферментный состав супероксиддисмутазы и каталазы изучали с помощью метода нативного электрофореза в полиакриламидном геле с последующим специфическим окрашиванием. Гели сканировали, а затем анализировали в программе 1DScan для оценки относительной яркости окрашенных полос. Также для каждого фермента измеряли суммарную активность в соответствующих реакциях в условиях *in vitro*.

Согласно полученным данным, суммарная активность супероксиддисмутазы возрастает на 2-3 суток после начала закаливания. В то же время не появляются новых изоформ фермента. С помощью ингибиторного анализа были выявлены все три типа супероксиддисмутазы, из которых большие изменения претерпевает Cu/Zn изоформа. Также как и для супероксиддисмутазы, активность каталазы повышается к середине периода закаливания. В спектре каталазы мы выявили две изоформы, одна из которых была существенно более активна и заметно изменяла свою активность на протяжении закаливания.

Зафиксированное нами повышение активности антиоксидантных ферментов обусловлено не появлением новых изоформ, а изменением активности конститутивно присутствующих. В повышение суммарной активности супероксиддисмутазы наибольший вклад вносят, по-видимому, Cu/Zn изоформы. Вероятно, на 2-3 суток закаливания происходят наиболее заметные изменения в антиоксидантной системе холодостойких растений.

**Создание ассоциативной симбиотической системы репы с ризобиями**  
**Лавина Анна Михайловна<sup>1</sup>, Нигматуллина Лилия Ралисовна<sup>1</sup>, Сербаева Элина**  
**Рустамовна<sup>2</sup>, Вершинина Зилия Рифовна<sup>1</sup>,**

<sup>1</sup>Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Россия, г.Уфа,

<sup>2</sup>ФГБУ "Башкирский государственный университет", Россия, г.Уфа,  
owlwoman@mail.ru

Репа является одной из наиболее распространенных культур защищенного грунта и занимает большие площади в тепличных хозяйствах РФ. Приемы защиты и увеличения уровня урожайности растений репы совершенствуются в направлении повышения защитных реакций растения. Экологически безвредным методом является использование ростостимулирующих ризобактерий (Plant growth promoting rhizobacteria – PGPR). Кроме того имеются данные, указывающие на их потенциал в качестве ассоциативных микросимбионтов и для небобовых культур.

Одним из вариантов положительного влияния ризобий на растения в ассоциативном симбиозе является их ростостимулирующий эффект. В виду этого, целью данной работы являлось создание и исследование свойств искусственной ассоциативной симбиотической системы репы с ризобиями, обладающими ростостимулирующей активностью.

Для определения ростостимулирующего эффекта ризобий на семена репы нами были выбраны 5 штаммов *R. leguminosarum* и 1 штамм *R. galega*. Для того чтобы избежать негативного воздействия на исследуемые растения, были проведены опыты по инокуляции растений различными концентрациями ризобий. Таким образом, были выявлены оптимальные концентрации  $10^3$  и  $10^4$  КОЕ/мл, при которых штаммы облают ростостимулирующим эффектом, не оказывая негативного влияния на растения репы. Семена репы инокулировали суспензией данных штаммов. Через неделю подсчитывали процент всхожести семян и длину проростков репы.

Было выявлено, что инокуляция растений штаммами ризобий значительно увеличивает всхожесть семян репы (от 26% до 64% выше показателя контрольных растений). Это явление может быть связано с синтезом ризобиями экзополисахаридов и индол-3-уксусной кислоты согласно результатам, полученным зарубежными авторами при исследовании влияния штаммов ризобий на всхожесть семян различных небобовых растений. Также нами было показано положительное влияние ризобий на рост проростков репы. Опытные проростки были длиннее контрольных на 5%-27%, в зависимости от того каким штаммом было обработано растение. В многочисленных работах по изучению, влияния ризобий на увеличение длины проростков различных растений, было доказано, что ризобии выделяют гиббереллин и/или индол-3-уксусную кислоту.

Таким образом, полученные результаты подтверждают возможность создания искусственных симбиотических ассоциаций репы с ризобиями, обладающими ростостимулирующей активностью.

**Сравнительный анализ линий риса с различной устойчивостью к длительному затоплению**

**Макаренко Максим Станиславович, Хачумов Владимир Артурович**

*Академия биологии и биотехнологии ЮФУ, Россия, Ростов-на-Дону*

*mstakarenko@yandex.ru*

Гербициды, несмотря на их значимость для сельского хозяйства, наносят существенный вред здоровью человека и окружающей среде. В связи с этим, в настоящее время является актуальной «экологизация» производства пищевых продуктов, в частности риса и его безгербицидная технология выращивания, что находится в русле мирового развития агропромышленного комплекса. При выращивании риса, способ борьбы с сорными растениями с использованием гербицидов

подразумевает повышение слоя воды в чеках до 30-40 см на этапе прорастания семян, что приводит к условиям гипоксии и, как следствие, гибель неустойчивых (сорных) растений. Целью настоящей работы являлся сравнительный анализ устойчивости линий риса к длительному затоплению и поиск молекулярных маркеров, ассоциированных с устойчивостью.

Материалом исследования служили селекционные образцы *Oryza sativa ssp. indica*: 10 отечественных и 4 вьетнамских линий из коллекции ВНИИ зерновых культур. Растения выращивали из под слоя воды (50 см) в течение 21 суток. Проводили морфофизиологический и молекулярно-генетический анализы.

По выживаемости растений образцы были классифицированы на устойчивые (> 80 %) и неустойчивые (< 65 %). Устойчивыми оказались 5 отечественных и 4 вьетнамские линии, при этом они обладали разными механизмами резистентности к затоплению: у вьетнамских линий сильно замедлялись ростовые процессы, высота растений была снижена на 70-80%, а у отечественных линий, наоборот, подвергавшиеся затоплению растения были выше на 15-70% чем контрольные растений, выращенные в нормальных условиях. В условия затопления (гипоксии) важную роль играют фитогормон этилен и этилен зависимые факторы. Методом ПЦР анализа у вьетнамских линий была обнаружена аллель этилен зависимого фактора Sub1A-1, которая, по литературным данным, обеспечивает устойчивость растений к затоплению. Этилен зависимые факторы Sk-1, Sk-2 обеспечивают усиленный рост и устойчивость «глубоководных» форм риса, но в генотипе отечественных линий Sk-1, Sk-2, а также Sub1A-1 обнаружены не были, вероятно, устойчивость отечественных линий реализуется за счет других механизмов. При микроскопическом исследовании срезов корней риса были обнаружены изменения межклеточного пространства: у неустойчивых форм происходило резкое увеличение (более чем в 10 раз) площади межклетников, тогда как у устойчивых линий, наоборот, наблюдалось снижение (в 2-3 раза) этого показателя относительно контроля.

В результате проведенных исследований были определены образцы риса перспективные для создания устойчивых к условиям длительного затопления гибридных комбинаций.

*Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ, проект № 40.91.2014/К.*

### **Специфика действия кофейной кислоты на фотосинтетическую активность и ростовые реакции *Solanum tuberosum***

**Макеева Инна Юрьевна, Бычков Иван Александрович**

*ФГБОУ ВПО «Орловский государственный университет», Россия, Орел*

*e-mail: makmus57@yandex.ru*

Среди многочисленных представителей фенольных соединений наименее изучена физиолого-биохимическая роль фенилпропаноидов. Прежде всего это касается гидроксикоричных кислот. Следует отметить, что в последнее время на их основе создан отечественный препарат «Циркон» (ННПП «НЭСТ М»). Однако, для выявления физиологического механизма действия гидроксикоричных кислот наибольший интерес представляет изучение влияния не смеси этих веществ, а их отдельных представителей. Следует заметить, что наибольшее внимание исследователи уделяют определению содержания гидроксикоричных кислот в растительном сырье для фармацевтических и пищевых целей, а также их антиоксидантной функции. Не найдено сведений об участии гидроксикоричных кислот в регуляции фотосинтетической активности и гормонального статуса растения. Целью данной работы было выявление особенностей действия кофейной кислоты на фотосинтетическую активность и ростовые реакции растений картофеля. Объектом исследования служили растения картофеля (*Solanum tuberosum L.*) сорта Жуковский ранний. Растения выращивали в почвенной культуре. Обработку

растений проводили путем опрыскивания 0.1 мМ раствором кофейной кислоты («Sigma», США) через 15 суток после появления всходов. Контрольные растения опрыскивали водой. Чистую продуктивность фотосинтеза определяли по методу А.А. Ничипоровича; фотохимическую активность изолированных хлоропластов – по скорости фотовосстановления феррицианида калия; содержание гиббереллинов – методом биотестирования. Кофейная кислота увеличивала на 22% чистую продуктивность фотосинтеза – интегрирующего показателя фотосинтезирующей деятельности. Одновременно активизировались реакции световой фазы фотосинтеза. А именно, кофейная кислота в 1.4 раза повысила фотохимическую активность хлоропластов, характеризующую скорость потока электронов, сопряженного с нециклическим фотофосфорилированием. Это происходило на фоне неизменного содержания суммы хлорофиллов ( $a+b$ ). Стимулирование кофейной кислотой этого процесса может быть связано с возрастанием уровня каротиноидов в светособирающем комплексе второй фотосистемы. Известно, что каротиноиды обладают антиоксидантными свойствами и, тем самым, защищают хлорофилл от окисления активными формами кислорода. Вместе с тем, как показали наши предыдущие исследования, кофейная кислота увеличивала содержание ауксинов, принимающих участие в ускорении переноса электронов к НАДФ. Влияние кофейной кислоты на ростовые показатели было неоднозначным. Не выявлено эффекта в действии кофейной кислоты на рост наземных побегов картофеля в высоту и закладку узлов – одного из этапов морфогенеза побега. Возможно, это связано с тем, что кофейная кислота не изменила уровень гибберелловой кислоты в листьях. Как известно, изученные ростовые показатели во многом зависят от содержания гиббереллинов. Обогащение растений кофейной кислотой стимулировало накопление массы наземных органов (на 28%) и клубней (на 30%), что по-видимому, связано как с интенсификацией световых реакций фотосинтеза, так и накоплением сухого вещества.

*Работа частично поддержана госзадаaniem Министерства образования и науки РФ, проект № 1373.*

### **Регуляция ионных токов в протопластах из пыльцевых зерен *Lilium longiflorum***

**Thumb. пероксидом водорода**

**Максимов Никита Михайлович**

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, биологический факультет, Россия, Москва, ntmaksimow@gmail.com*

Механизмы регуляции прогамной фазы оплодотворения являются важной темой в современной репродуктивной биологии растений. Быстрая активация и прорастание пыльцевого зерна, полярный и направленный рост пыльцевой трубки обеспечивают доставку спермиев в зародышевый мешок, где происходит двойное оплодотворение. Благодаря простоте культивации пыльцевых трубок в условиях *in vitro* и *semi in vivo*, они являются прекрасным модельным объектом для изучения закономерностей полярного роста.

Известно, что важнейшим механизмом, обеспечивающим активацию пыльцевого зерна, а также установление и поддержание полярности являются полярные трансмембранные ионные токи ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-/\text{NO}_3^-$ ,  $\text{H}^+$ ,  $\text{K}^+$ ). Как следствие, в цитоплазме вегетативной клетки формируются градиенты основных ионов ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{H}^+$ ,  $\text{Cl}^-/\text{NO}_3^-$ ), а на мембране возникает латеральный градиент мембранного потенциала. Существующие молекулярно-биологические данные демонстрируют, что полярный характер токов обеспечивается как неравномерным распределением ион-транспортных систем в плазмалемме, так и их дифференциальной пространственной регуляцией.

В последние годы важнейшая роль в регуляции ионного транспорта отводится активным формам кислорода (АФК). По отношению к мужскому гаметофиту выделяют как эндогенные источники АФК, так и экзогенные. Основным эндогенным источником АФК является НАДФН-оксидаза плазмалеммы, значительно меньше известно об

участии митохондрий в генерации АФК. Экзогенным источником АФК для мужского гаметофита являются ткани женского спорофита; показано накопление АФК в рыльце пестика при подготовке к опылению. Не смотря на то, что доступные на данный момент методы не позволяют однозначно идентифицировать отдельные АФК, имеющиеся экспериментальные факты указывают на то, что наиболее распространенным регулятором в условиях *in vivo* выступает пероксид водорода.

В настоящей работе была поставлена задача: выявить ионные токи, чувствительные к пероксиду водорода, в мужском гаметофите *L. longiflorum*, и обнаружить эффект пероксида на интегральный показатель ионного транспорта – мембранный потенциал. Для этого проводили измерение  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{K}^{+}$  токов в протопластах, выделенных из пыльцевых зерен, прямым методом – пэтч-кламп. С использованием количественной флуоресцентной микроскопии изучали влияние пероксида водорода на мембранный потенциал протопластов.

Пероксид водорода в низких нетоксичных концентрациях (100 мкМ) приводит к активации входного  $\text{Ca}^{2+}$ -тока. Одновременно обнаружена невысокая, но достоверная активация выходного  $\text{K}^{+}$ -тока. Действия пероксида водорода на мембранный потенциал зарегистрировано не было. Полученные результаты дополняют наши знания о регуляции работы ионных каналов.

### **Этилен-зависимая регуляция клеточного цикла оксидом азота**

**Мамаева Анна Станиславовна**

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

*AnnetteSt@yandex.ru*

Оксид азота (NO) – внутриклеточный регулятор физиологических процессов у филогенетически различных групп. Хорошо известно, что у животных NO регулирует деление клеток, однако, участвует ли оксид азота в регуляции деления культивируемых клеткок растений остаётся мало неизученным. Мы исследовали влияние NO на пролиферацию клеток растений, отличающихся функционированием пути передачи этиленового сигнала. В культуре клеток *Arabidopsis thaliana* дикого типа (Col-0) уровень NO увеличивался по мере роста числа клеток, тогда как в клетках этилен-нечувствительного мутанта *ein2* NO наиболее активно образуется сразу же после выхода клеток из лаг-фазы. После 3-часовой обработки клеток нитропруссидом натрия (SNP) - донором NO, содержание NO увеличивалось в клетках обоих генотипов. Клетки Col-0 и *ein2* синтезируют этилен, продукция которого, совпадающая с логарифмической фазой роста, ярко выражена у Col-0. В клетках обоих генотипов, обработанных SNP, снижался уровень АФК. Обработка SNP приводила к снижению количества S-фазных клеток в культуре Col-0, но не *ein2*. Снижение числа S-фазных клеток сопровождалось понижением уровня экспрессии *CYCD3;1*, тогда как экспрессия *CYCB1;1* и *CYCA2;3* не изменялась. Таким образом, мы установили, что NO влияет на протекание клеточного цикла на уровне G1/S перехода. Нитрирование тирозина в белках – одно из молекулярных последствий обработки клеток NO. При передаче этиленового сигнала функционируют МРК, которые у животных подвергаются нитрированию. На индивидуальных рекомбинантных растениях AtMPK3/4/6 показано, что при нитрировании их энзиматическая активность снижалась. Поскольку AtMPK3 регулирует передачу этиленового сигнала, AtMPK6 - синтез этилена, а AtMPK4 – цитокинез, нитрирование этих белков может иметь сигнальную функцию. Таким образом, мы установили, что для регуляции клеточного цикла оксидом азота необходимо функционирование пути передачи этиленового сигнала. Возможно, участие NO в сигнальном пути этилена осуществляется посредством снижения содержания в клетках АФК, либо влияния на активность МАРК, участвующих в передаче этиленового сигнала.

*Работа выполнена при частичной поддержке*

*Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 14-04-00333).*

## **Роль внеклеточной инвертазы в регуляции фотосинтеза и транспирации**

**Михайлов Александр Леонидович**

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Россия, Казань*

*almihailov@bk.ru*

Значение фермента инвертазы в регуляции углеводного обмена отмечалось давно. Введение дополнительного гена апопластной инвертазы снижало фотосинтез и устойчивость растений к засухе. Можно было предполагать, что блокирование гена апопластной инвертазы окажет обратное действие на фотосинтез. Поэтому нами изучался газообмен и фотосинтетический метаболизм углерода в листьях томата с подавленным с помощью РНК-интерференции геном инвертазы. Анализировали ассимиляцию  $^{14}\text{CO}_2$  и распределение  $^{14}\text{C}$  среди меченых продуктов фотосинтеза у контрольных и удобренных нитратами растений. С помощью газометрической установки GFS-3000 оценивались фотосинтез и транспирация опытных растений. Специфика действия генетической трансформации на фотосинтетическую фиксацию  $^{14}\text{CO}_2$  зависела от условий для активного роста и метаболизма органов акцепторов. Трансформированные растения в меньшей степени реагировали на повышение в почве концентрации нитратов. У растений дикого типа индекс сахара/гексозы под действием нитратов уменьшился почти в два раза, а у трансформированных - не изменился, но сохранялся на высоком уровне. Неоднозначно у разных форм растений изменялось и содержание  $^{14}\text{C}$  в продуктах гликолатного метаболизма. У дикого типа с повышением концентрации нитратов радиоактивность малата и аспартата увеличилась в 8,7 и 7,0 раза, а у трансформанта только в 4,4 и 3,0 раза. Это означает, что по сравнению с диким типом у трансформанта в два раза меньше подкисляется цитоплазма. Подкисление водной среды апопласта и влияет, по-видимому, на активность апопластной инвертазы, которая является кислым ферментом. Такая специфика изменения углеводного метаболизма у растений-трансформантов проявилась и в газообмене листьев (фотосинтез и транспирация). Особенно ярко это проявилось в ответ на двукратное понижение освещенности. У дикого типа растений произошло синхронное снижение и фотосинтеза, и транспирации, а у трансформанта фотосинтез снизился, а транспирация - возросла. Представленные экспериментальные данные позволяют делать вывод, что существует объединенный регуляторный комплекс, контролирующий поток продуктов фотосинтеза из листа в потребляющие ассимиляты органы. Весь этот комплекс реагирует на изменение соотношения между потоком падающих на лист квантов света и возможностями темновых реакций метаболизма углерода, изменяя фотосинтез через устьичную проводимость диффузии  $\text{CO}_2$ .

*Автор выражает благодарность проф. Чикову Владимиру Ивановичу, Федеральное бюджетное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН, Казань*

## **Физиологически активные флавоны культивируемых *in vitro* клеток, тканей и корней шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis* Georgi):**

**состав и количественное содержание**

**Олина Анна Викторовна, Орлова Екатерина Владимировна**

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

*E-mail: anya\_olina@mail.ru*

Шлемник байкальский — широко используемое лекарственное растение. В его корнях синтезируются и накапливаются ценные флавоны, обладающие широким спектром физиологической активности — от противомикробной до цитотоксической. Востребованность шлемника байкальского в медицинской практике и его неконтролируемый сбор привели к значительному сокращению его природных

популяций. Острый дефицит природного лекарственного сырья стимулировал создание биотехнологических систем культивирования клеток, тканей и корней шлемника байкальского в строго контролируемых условиях *in vitro*. Целью данной работы было сравнение трёх типов растительных систем, образующих флавоны, по таким параметрам как качественный и количественный состав основных флавонов в каждой из них, при условии использования их для получения семян одного происхождения.

Для исследования использовали культуру трансформированных корней, так называемых "hairy roots", полученную в 1996 году, а также каллусные и суспензионные культуры, полученные как от корней проростков, так и от "hairy roots". Все культуры выращивали на среде Гамборга: калусная и суспензионная культура поддерживалась на среде с добавлением гормонов, а культура трансформированных корней – на среде без добавления гормонов. Анализ содержания флавонов производили с помощью ВЭЖХ, идентификацию флавонов производили методом внешнего стандарта и с помощью детекции УФ-спектров.

Результаты анализов показали, что содержание флавонов во всех объектах исследования сопоставимо, но в несколько раз ниже, чем в корнях целого растения. Соотношение основных пар флавонов (байкалин+байкалеин и вогонозид+вогонин) различается среди объектов: в каллусных и суспензионных культурах доминируют байкалин+байкалеин, как и в корнях целого растения, в отличие от культуры hairy root, где преобладает пара вогонозид+вогонин. Также были выявлены некоторые различия в качественном составе флавонов в аналогичных культурах разных линий – полученных от корней проростков и от "hairy root".

Основываясь на полученных результатах, можно сделать вывод, что культура трансформированных корней шлемника байкальского является наиболее продуцибельной системой для получения флавонов *in vitro* ввиду особенностей количественного состава синтезируемых веществ, быстрого прироста биомассы, роста на свободной от гормонов среде. В культуре трансформированных корней среди флавонов преобладает пара вогонозид и вогонин. Эти флавоны представляют больший интерес с фармакологической точки зрения, чем байкалин и байкалеин, а также являются менее изученными. Проведенные нами исследования, позволяют говорить, что культура трансформированных корней "hairy root" является перспективным объектом для дальнейшего исследования.

### **Оценка реакции растений яровой мягкой пшеницы на обработку семян ПАБК в моделируемых условиях засоления**

***Петрова Анна Александровна***

*Тюменский государственный университет, Институт Биологии, Россия, Тюмень*

*E-mail: inbiobotan@gmail.com*

В современных условиях площади засоленных почв под воздействием различных антропогенных факторов постоянно возрастают. Неблагоприятные воздействия натрий-хлоридного засоления на растения определяются двумя факторами: снижением доступности воды при низких значениях водного потенциала почвенного раствора и токсическим действием ионов натрия и хлора. Воздействия этих факторов приводят к подавлению роста растений и, в конечном итоге, к снижению их урожайности.

Работа выполнена на кафедре ботаники, биотехнологии и ландшафтной архитектуры Института биологии Тюменского государственного университета. Объектом изучения послужили 5 сортов яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) (Казахстанская 10, Лютесценс 70, СКЭНТ 1, СКЭНТ 3, Тюменская 80), относящиеся к разновидности *lutescens*.

Оценку сортов пшеницы по устойчивости к хлоридному засолению проводили с помощью вегетационного метода. Для повышения солеустойчивости использовали парааминобензойную кислоту (ПАБК), физиологически активное вещество,

полимодификационного действия. Эксперимент включал 6 вариантов: контроль 1 и опыт 4 – сухие семена без обработки; контроль 2 и опыт 3 – семена, выдержанные в воде; опыт 1 – семена, обработанные 0,01% раствором ПАБК; опыт 2 – семена, обработанные 0,05% раствором ПАБК. Время обработки семян – 12 ч. Определение морфометрических параметров проведено на 10-дневных проростках.

Лабораторная всхожесть семян значительно снижалась в условиях хлоридного засоления, и в среднем по сортам изменялась от 44,7 до 53,1%, в контрольных вариантах от 82,3 до 83,5%. Отдельно по сортам данный показатель варьировал от 14,0% у сорта СКЭНТ 3 в опыте 2 до 74,7% у сорта СКЭНТ 1 в опыте 3. Наибольшей лабораторной всхожестью в контрольных вариантах характеризовались сорта Лютесценс 70 (97,3-99,3%) и СКЭНТ 1 (92,0-94,7%). Обработка семян ПАБК приводила к увеличению процента всхожих семян у сортов Лютесценс 70, Казахстанская 10 и Тюменская 80 на 17,9-39,4% по сравнению с вариантом на фоне с засолением без обработки.

На провокационном фоне наблюдалось угнетение признаков корневой системы (число, длина, сырая и сухая масса корней) и надземных органов (число, ширина, площадь листа, длина, сырая и сухая масса побега) проростков.

Предварительная обработка семян ПАБК привела к повышению адаптивных свойств проростков, способствуя увеличению числа корней, длины корневой системы и побегов, площади листовой пластинки. Наибольший эффект отмечен при использовании ПАБК в концентрации 0,01%.

С целью выделения лучших сортов в стандартных условиях и на фоне с засолением нами было проведено балловое ранжирование по 11 признакам. СОРТУ с минимальным значением признака присваивали 1 балл, с максимальным – 5 баллов (по количеству сортов). Максимально возможная сумма баллов, которую мог набрать сорт в отдельном варианте эксперимента – 55 баллов. В итоге по общей сумме баллов к лучшим отнесены сорта СКЭНТ 1 (258-279 б.) и Казахстанская 10 (200-227 б.), характеризовавшиеся более развитыми проростками среди других на провокационном фоне.

Наиболее чувствительным к хлоридному засолению оказался сорт СКЭНТ 3, набравший наименьшее количество баллов (109-127 б.).

*Выражаю благодарность за помощь в проведении работы моему научному руководителю кандидату биологических наук, доценту Белозеровой Анне Алексеевне.*

## **Влияние заражения *Clavibacter michiganensis ssp. sepedonicus* на развитие картофеля в Восточной Сибири**

***Перфильева Алла Иннокентьевна***

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки*

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

*E-mail: alla.light@mail.ru*

Одной из проблем фитоиммунологии и сельского хозяйства является кольцевая гниль картофеля, вызываемая грамположительной бактерией *Clavibacter michiganensis ssp. sepedonicus* (Cms). В результате этого заболевания теряется до половины урожая картофеля в странах Северной Европы и Канады. Согласно данным Европейской и Средиземноморской организации защиты растений (<http://www.eppo.int>) кольцевая гниль широко распространена в европейских регионах России, хотя и не является карантинным организмом. Можно ожидать, что в связи с глобальным потеплением климата ареал обитания возбудителя будет расширяться, что приведет к распространению данного заболевания и в Восточной Сибири.

Целью настоящей работы являлось изучение проявления симптомов заболевания кольцевой гнили картофеля в условиях Восточной Сибири. В работе были использованы клубни картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сорта Лукьяновский – восприимчивый к бактериальному фитопатогену *Clavibacter michiganensis ssp. sepedonicus* (Cms) и два штамма Cms: штамм Ас1405 и штамм В 66. Работа представлена одним экспериментом,

включающим инфицирование клубней *Sms* двух штаммов перед закладкой на хранение (осенью), анализ влияния заражения на проростание клубней (весной, после хранения), высаживание этих клубней в почву, анализ вегетации и продуктивности.

Было показано, что заражение двумя штаммами *Sms* не оказывало отрицательного эффекта на количество проростков у клубней, но значительно ингибировало их длину. Наблюдения за растениями картофеля в период вегетации показало, что заражение обоими штаммами патогена приводило к увеличению процента цветущих растений по сравнению с контролем. У растений зараженных штаммом Ас1405 количество побегов и их длина достоверно превышало эти показатели у контрольных растений. Заражение штаммов В66 повышало количество побегов, но не влияло на их длину. По-видимому, это свидетельствует о стимуляции роста и развития растений бактериальным заражением. Также заражение штаммом Ас 1405, приводило к некоторому повышению продуктивности, заражение штаммом В66 ее снижало.

Таким образом, исследуемые штаммы бактерии *Sms* подавляют проростание клубней картофеля во время хранения, не влияя на продуктивность. Более того, заражение может стимулировать рост и развитие растений, повышая количество побегов и их длину на стадии вегетации. Отсутствие отрицательного эффекта заражения *Sms* на продуктивность может быть вызвано латентным характером заболевания, а также климатическими условиями Восточной Сибири, ограничивающими распространение заболевания кольцевой гнили картофеля.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта № 14-404107 РФФИ\_Сибирь.*

**Исследование антиоксидантной и антимикробной активности экстрактов дикорастущих растений Алматинской и Восточно-Казахстанской областей**

**Платаева Айдана Кайратқызы, Заворотная М.В., Кустова Т.С.**

*Казахский Национальный Университет им. аль-Фараби, факультет Биологии и Биотехнологии, Казахстан, Алматы  
e-mail: goodmary1993@mail.ru*

В связи с высокой заболеваемостью населения в последние годы наблюдается рост рынка фармацевтических препаратов, в особенности, синтетически созданных. Однако, данные препараты могут вызывать аллергию и другие побочные действия, а также возбудители заболеваний приобретают устойчивость к некоторым антибиотикам. В связи с этим целью данной работы являлся поиск биологически активных соединений из дикорастущей флоры Алматинской и Восточно-Казахстанской областей Республики Казахстан, обладающих антимикробной и антиоксидантной активностью.

Объектом исследований являлись дикорастущие растения флоры Казахстана: *Epilobium hirsutum*, *Rumex confertus*, *Vexibia alopecuroides* (L.) Jakovl., *Atraphaxis replicata* Lam., *Sanguisorba officinalis* L., *Polygonum undulatum* Murr., *Rhodiola quadrifida* Fisch. et Mey.

В работе были использованы методы: экстракции биологически активных соединений; серийных разведений в бульоне; фотометрическое определение антиоксидантного потенциала, по способности восстанавливать АВТС радикал, образованный при совместном инкубировании 2,2'-азино-бис-(этилбензтиазолино-6-сульфонат) (АВТС) с персульфатом аммония.

Исследование экстрактов растений показало избирательную антимикробную активность. Так, экстракт *Epilobium hirsutum*, проявил наибольшую активность против штамма дрожжей *Candida glabrata*, для которого, концентрация полумаксимального ингибирования (IC50), составила 2 мкг/мл. Экстракт *Vexibia alopecuroides* проявил самую высокую антибактериальную активность в отношении *Staphylococcus aureus* (IC50 3,05 мкг/мл) и *Methicillin-resistant S. aureus* (IC50 2,9 мкг/мл).

Антиоксидантную активность проявили экстракты из растений *Rhodiola quadrifida*, *Epilobium hirsutum*, *Rumex confertus*, *Atraphaxis replicate Lam.* Наибольшей антиоксидантной активностью обладали экстракты из *Rumex confertus* и *Atraphaxis replicate Lam.*, при концентрации которых 3, 8 мкг/мл происходила инактивация 50% свободного радикала ABTS радикал. Остальные экстракты показали недостаточно высокую антимикробную и антиоксидантную активности.

В результате скрининга были отобраны наиболее перспективные растительные экстракты. Высокую антиоксидантную и антимикробную активность проявили: *Epilobium hirsutum*, *Vexibia alopecuroides*, *Rumex confertus*, *Atraphaxis replicate Lam.* Экстракты данных растений могут быть рекомендованы в качестве основы для создания препаратов профилактического и лечебного характера.

### **Исследование изменения экспрессии генов семейства глутатион-редуктаз риса (*Oryza sativa* L.) при аноксии и последующем окислительном стрессе**

**Приказюк Егор Геннадьевич**

*Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург  
prikaziuk@mail.ru*

Одними из ключевых метаболитов, осуществляющих регуляцию концентрации активных форм кислорода, являются антиоксиданты. Важным метаболитом является трипептид глутатион, водорастворимый антиоксидант, восстановленная форма которого участвует в окислительно-восстановительных реакциях вместе с глутатионредуктазами (КФ 1.6.4.2). Общеизвестно, что одним из факторов гибели растений является нарушение контроля над образованием свободных радикалов. Эта проблема особенно актуальна в Северо-Западном регионе России, где, согласно статистическим данным, потеря урожаев зерновых культур вызвана, в основном, погодными условиями. В связи с этим, в данном исследовании мы исследовали действие дефицита кислорода и последующего окислительного стресса на экспрессию генов, кодирующих глутатионредуктазы.

Исследования проводились на побегах и корнях десятидневных проростков риса – устойчивого к аноксии растения. Анализ экспрессии генов проводился методом RT-PCR в четырёх биологических повторностях (в каждой по три аналитические повторности). Значения, выходящие за границы доверительного интервала ( $\alpha < 0,05$ ), не учитывались при расчётах. Уровень экспрессии рассчитывался относительно гена, кодирующего бета-тубулин-2 (*OsTub2*), по методу  $2^{-\Delta\Delta CT}$ .

Полученные данные показали, что в контроле уровни экспрессии в обоих органах были сопоставимы (около 15 условных единиц). Мы наблюдали различие в экспрессии генов, кодирующих разные изоформы глутатионредуктаз: в побеге все три гена работали приблизительно поровну, а в корне преобладал ген *OsGR2*, кодирующий изоформу с цитозольной локализацией.

Было показано увеличение экспрессии генов семейства *OsGR* под действием аноксии и последующей реэрации в побегах, и уменьшение экспрессии оных в корнях. Наибольший вклад в увеличение экспрессии в побегах вносил ген *OsGR3*, кодирующий изоформу фермента с плазмидно-митохондриальной локализацией. В корне значительного изменения соотношения экспрессии генов не происходило.

В настоящем исследовании получены данные по изменению экспрессии генов, кодирующих глутатионредуктазы устойчивого к затоплению растения риса. Эти данные могут быть использованы в качестве эталона устойчивости при исследованиях адаптации пшеницы и других злаковых культур.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (№ 12-04-01029а) и КНВШ (ПСП №13384, ПСП №14416).*

**Влияние избытка ауксина на рост растений табака**

**Санаева Юлия Владимировна**  
**Борцова С.А., Ермошин А.А.**  
ФГАОУ ВПО Уральский федеральный университет им. первого Президента России  
Б.Н.Ельцина, Россия, Екатеринбург  
E-mail: [ermosh@el.ru](mailto:ermosh@el.ru)

Одним из важных фитогормонов является ауксин, регулирующий клеточное растяжение, деление и дифференцировку. Экзогенная обработка фитогормонами может не всегда корректно отражать те изменения, которые происходят в растении при их эндогенном действии. Целью работы было изучение влияния эндогенного ауксина на распределение фитомассы отдельных органов растений табака.

Объектом исследования были трансгенные растения табака, экспрессирующие агробактериальный ген биосинтеза ауксина – *iaaM* под контролем промотора CaMV 35S и контрольные особи. Растения выращивали в закрытом грунте на биостанции УрФУ. В конце вегетационного сезона измеряли высоту растения, число листьев и сухую массу надземных органов (соцветия, стебель, листья, боковые побеги).

Поскольку факт того, что ауксин обладает аттрагирующим действием достоверно не установлен, мы предположили, что трансгенные растения с гиперпродукцией ауксина должны характеризоваться большим накоплением фитомассы за счет усиленного накопления ассимилятов. Однако мы обнаружили, что высота трансгенных растений была достоверно меньше и составила 75% от высоты в контроле. Соответственно, сухая масса надземной части трансгенных растений также уменьшилась (79% от массы в контроле). Избыток ауксина не повлиял на число листьев.

Задачей исследования было также выяснить, влияет ли избыток ауксина на распределение фитомассы отдельных органов. Для этого нами было рассчитано процентное отношение сухой массы отдельного органа к сухой массе надземной части растения. Данный показатель не изменялся для соцветий и листьев, однако избыток ауксина вызвал небольшое, но достоверное увеличение (на 7%) относительной массы стебля и десятикратное уменьшение относительной массы боковых побегов.

Таким образом, избыток эндогенного ауксина приводит к изменению габитуса растений (уменьшение надземной фитомассы и морфологические изменения листьев) и распределения фитомассы стебля и боковых побегов. Торможение роста может быть связано с повышением концентрации ауксина выше оптимальной, поскольку для создания трансгенных растений использовался сильный конститутивный промотор, вызывающий синтез ауксина во всех тканях растения, а не только в апексе побега. Увеличение относительной сухой массы стебля, вероятно, связано с тем, что ауксин вызывает дифференциацию ксилемы, поэтому, согласно нашим наблюдениям, стебель стал более плотным, вероятно, за счет большого содержания механических тканей. Торможение роста боковых побегов под влиянием ауксина согласуется с данными литературы.

### **Изменение физиолого-морфологических параметров туи западной в условиях городской среды**

**Смирнова Любовь Александровна**  
Вологодский государственный университет, Россия, Вологда  
E-mail: [smirnowaliuba@yandex.ru](mailto:smirnowaliuba@yandex.ru)

Современной проблемой является рост городского населения и, как следствие, увеличение техногенной нагрузки. В связи с этим, использование и исследование зелёных насаждений в городской среде, которые выполняют не только эстетическую, но и защитную функции, является актуальной темой. Установлено, что преимущество имеют голосеменные растения поскольку их продолжительность жизни больше, чем лиственных растений и они сохраняют декоративный вид в течении всего года. В

последнее время остро стоит проблема исследования зависимости экологического состояния хвойных растений от действия разного рода факторов и устойчивости к ним.

В настоящей работе объектом исследования являлась туя западная (*Thuja occidentalis* L.). На территории г. Вологды проводилось обследование жизненного состояния туи западной используя специальную шкалу. Загрязнение окружающей среды проводили с помощью физико-химических методов. Определяли засоленность, кислотность, перманганатную окисляемость почвенной вытяжки и содержание механических примесей снежного покрова. С помощью биохимических методов анализировали физиологические показатели туи: содержание пигментов и пролина.

На сегодняшний день на территории г. Вологды обследовано 356 растений. Оценка жизненного состояния растений показала, что в посадках туи присутствуют четыре класса жизнестойкости. Из них практически в равном соотношении встречаются I и II классы (34,3 и 37,1 % соответственно). Достаточно много встречается и сильно ослабленных деревьев, имеющих третий класс жизнестойкости (26,1 %). Биохимические показатели деревьев оценивались на опытных площадках различных по антропогенной нагрузке. Исследование содержания пигментов фотосинтеза в хвое туи западной показало, что содержание хлорофилла *a* и *b* наибольшее у старовозрастных деревьев с антропогенной нагрузкой. Содержание хлорофилла *a* в хвое туи западной больше, чем содержание хлорофилла *b*. Наибольшее содержание пролина было установлено на площадках с высокой антропогенной нагрузкой.

В результате исследования было выявлено четыре класса жизнестойкости среди посадок туи западной. В результате влияния комплекса факторов наблюдается ухудшение жизненного состояния туи, что сопровождается снижением декоративных качеств. Обнаружено, что загрязнение окружающей среды приводит к увеличению перманганатной окисляемости почвы, увеличению механических примесей в снежном покрове. При увеличении антропогенной нагрузки происходят изменения физиологических процессов туи западной: снижается содержание хлорофиллов; увеличивается стресс-индуцируемый синтез пролина.

## **Выращивание тепличных огурцов с применением биопрепарата ЖФБ**

***Смирнова Юлия Дмитриевна***

*научный сотрудник*

*ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт*

*мелиорированных земель, Россия, Тверь*

*[ulayad@yandex.ru](mailto:ulayad@yandex.ru)*

В настоящее время очень остро стоит вопрос о качестве сельскохозяйственной продукции, особенно выращиваемых в зимне-весенний период в тепличных условиях. Для получения более качественной продукции с меньшим содержанием нитратов и большей питательной ценностью, многие тепличные хозяйства используют в качестве подкормки овощных культур вместо химических удобрений безопасные экологически чистые биопрепараты и биоудобрения. Один из таких биопрепаратов разработан в отделе биотехнологий ВНИИМЗ – ЖФБ, получаемый из торфо-навозной смеси. ЖФБ характеризуется высокой численностью агрономически полезной микрофлоры, высокой питательной ценностью, присутствием физиологически активных веществ и благоприятным уровнем рН.

Были проведены экспериментальные исследования, по выращиванию тепличных огурцов сорта Кураж с подкормкой ЖФБ в различных дозах. Тестируемое жидкофазное биосредство вносили путем полива растений огурца, начиная с фазы 7-8 листа с периодичностью два раза в месяц в различных дозах – 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 л/м<sup>2</sup>. Контролем служил вариант без внесения ЖФБ. Урожайность плодов огурца определяли сложением сборов, производимых в течение трех месяцев (март-май), сбор осуществлялся три раза в

неделю. В опыте была произведена оценка качества получаемой продукции и подсчитан условно-экономический эффект.

Урожайность растений огурца с подкормкой биопрепаратом ЖФБ оказалась выше контрольного варианта. При использовании жидкофазного биосредства в малых дозах 0,1 и 0,2 л/м<sup>2</sup> уже на ранней стадии сбора (1-й месяц сбора) урожайность плодов огурца по сравнению с контролем увеличилась на 20 и 5 % соответственно. При массовом сборе огурцов (через месяц от начала сборов и до конца эксперимента) прибавку урожая давали и варианты с дозами 0,3 и 0,4 л/м<sup>2</sup>. По двум годам наблюдений наибольшая прибавка урожая была от применения ЖФБ в дозе 0,1 л/м<sup>2</sup>: в 2009г. прибавка составила около 10 кг/м<sup>2</sup>, а в 2010г. – 4,5 кг/м<sup>2</sup> по суммарному сбору – ранний + массовый.

Оценка качества плодов огурца проводилась путем выполнения анализов, включающих определение количества нитратов, сухого вещества, моносахаров и витамина С. Содержание нитратов при внесении ЖФБ во всех случаях не превышало уровень ПДК = 400 мг/кг (СанПиН 42-123-4619-88) для огурцов, выращенных в тепличных условиях, и было ниже контрольного варианта в среднем на 22 %.

Было обнаружено, что количество сухого вещества в плодах огурца возрастало в отдельных вариантах при внесении ЖФБ, хотя рост был несущественным по отношению к контролю. Аналогичную тенденцию выявили и в отношении других показателей, отражающих физиологическую активность, – витамина С и моносахаров.

Условно-чистый доход от применения ЖФБ в наиболее эффективной дозе 0,1 л/м<sup>2</sup> составил 308,1 руб. с 1 м<sup>2</sup> теплицы.

Данный эксперимент показал положительное влияние нового жидкофазного биопрепарата – ЖФБ, используемого в качестве подкормки огурцов сорта Кураж, выращиваемых в условиях теплицы. ЖФБ в дозе 0,1 л/м<sup>2</sup> способствовал увеличению продуктивности растений (на 18 %) и улучшению качества плодов, характеризующихся пониженным содержанием нитратов.

## **Влияние препарата Циркон на рост и развитие кукурузы *Zea mays* L. CV /ТАР 349 МВ/**

***Собчук Наталья Андреевна, Рыбовалова И.А.***

*Таврическая Академия Федерального государственного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», факультет биологии и химии, Крым, Симферополь  
E-mail: sob4uk.n@gmail.com*

На протяжении многих десятилетий для повышения урожайности в сельском хозяйстве используют регуляторы роста растений. Препарат нового поколения Циркон обладает комплексным действием: является регулятором ростовых, генеративных и корнеобразовательных процессов, индуктором болезнеустойчивости и стрессовым адаптогеном. Так как производитель данного препарата не указывает точные дозировки для конкретных сельскохозяйственных культур, целью нашего исследования было установление оптимальной концентрации препарата для стимуляции прорастания семян и роста проростков кукурузы.

При постановке исследования семена кукурузы раскладывали в чашки Петри на фильтровальную бумагу, приливали по 10 мл рабочего раствора с различной концентрацией исследуемого препарата (0,0125; 0,025; 0,05; 0,075 и 0,1% растворы, контроль – отстоянная водопроводная вода). Энергия прорастания и всхожесть семян определялись согласно ГОСТ 12038-84. На 4-е сутки проростки переносили на водную культуру (среда Кнопа). Растения выращивали при естественном освещении в вегетационных сосудах емкостью 0,5 л. Высоту растений, длину корней, массу сырого и сухого вещества измеряли у 7-14-дневных растений.

В результате исследования было выявлено положительное влияние препарата на метаболизм растений кукурузы, активацию физиологических процессов, происходящих

в семенах и проростках кукурузы. Отмечено заметное влияние препарата на такие биометрические показатели, как длина корневой системы и проростка, масса сырого и сухого вещества надземной части и корней, площадь листовой поверхности, а также энергию прорастания и всхожесть проростков кукурузы. Установлено, что все изучаемые концентрации препарата улучшают изучаемые показатели по сравнению с контролем. Наилучший эффект установлен нами в варианте с концентрацией препарата Циркон 0,05%. Полученные нами данные подтвердили перспективность использования препарата Циркон для предпосевной обработки семян различных сельскохозяйственных культур.

### **Особенности накопления гинзенозидов в суспензионной культуре клеток**

***Panax japonicus var. repens (женьшень японского)***

***Стариков Александр Юрьевич, Глаголева Елена Сергеевна***

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

*биологический факультет, Россия, Москва*

*E-mail: bobr1393@gmail.com*

Уменьшение размеров природных популяций растений - продуцентов вторичных метаболитов необходимых для применения в медицине, является актуальной проблемой современной фармацевтической промышленности. Использование культур клеток этих растений, в качестве источника лекарственных веществ, представляет собой один из способов её решения. В ранее опубликованных исследованиях показано, что накопление вторичных метаболитов в культурах клеток связано с их фракционным составом, в частности, известно, что в накоплении таксоидов участвует только 30% всей популяции клеток тиса, фракции агрегатов которой составляют от 500 до 800 мкм.

Одно из широко известных лекарственных растений - женьшень японский, лечебные свойства которого обусловлены содержащимися в нём тритерпеновыми гликозидами - гинзенозидами. Поэтому в качестве объекта нами была выбрана культура клеток *Panax japonicus* С.А.Меу. var. *repens* Maxim. Целью исследования являлось изучение популяционного состава суспензионной культуры клеток женьшеня японского. В качестве основных критериев использовали степень агрегации клеток и распределение гинзенозидов по различным субпопуляциям. Было проведено фракционирование культуры клеток с помощью сит с различными диаметрами отверстий (200, 100 и 53 мкм). Для полученных фракций, обогащённых агрегатами определённого размера, установили параметры числа клеток, сухой и сырой биомассы, проведён анализ гинзенозидов с помощью тонкослойной хроматографии (ТСХ) и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

В результате проведенной работы было показано, что основной вклад в популяцию вносят крупные клеточные агрегаты размерами более 200 мкм (от 50 до 60% по числу клеток и более 90% по как по сухой, так и по сырой массе). Агрегаты размерами от 100 до 200 мкм занимают меньшую долю (в среднем 15% процентов по количеству клеток за цикл культивирования). Оставшуюся часть популяции формируют агрегаты размером менее 100 мкм. Результаты ТСХ и ВЭЖХ, свидетельствуют об отсутствии значительных отличий в составе гинзенозидов в выделенных фракциях клеток. В результате проделанной работы, мы не обнаружили корреляции между распределением гинзенозидов в различных фракциях суспензионной культуры и размером клеточных агрегатов в культуре клеток женьшеня японского.

### **Влияние электромагнитного излучения на накопление антоцианов и элементы**

**структуры урожая диплоидной гречихи**

***Суша Ольга Александровна***

*Белорусский государственный педагогический университет имени М. Танка,*

*факультет естествознания, Беларусь, Минск*

E-mail: [olgasusha2013@mail.ru](mailto:olgasusha2013@mail.ru)

В естественных условиях растения постоянно подвергаются воздействию неблагоприятных факторов среды. Одним из факторов, повышающих устойчивость, выступает электромагнитное излучение (ЭМИ), получившее много позитивных отзывов. По результатам многочисленных исследований показано, что предпосевная физическая обработка семян, а именно ЭМИ позитивно влияет на всхожесть, устойчивость растений и, в конечном счете, на урожай. Это послужило отправной точкой для начала исследований. Гречиха посевная, или съедобная (*Fagopyrum sagittatum gilib*) – ценная крупяная и кормовая культура, имеющая ряд положительных свойств: прописана людям, страдающим анемией и сердечно-сосудистыми заболеваниями. В семенах гречихи содержится рутин (витамин Р), ниацин (витамин РР), рибофлавин и фолиевая кислота. В связи с этим целью данной работы было выяснение влияния ЭМИ на накопление антоцианов в стеблях и формирование элементов структуры урожая диплоидной гречихи сортов Аметист, Ланнея, Феникс в засушливых условиях полевого опыта 2014 года.

Обработка семян диплоидной гречихи 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). Полевой мелкоделяночный опыт проводился на базе Центрального ботанического сада НАН Беларуси. Результаты опыта были обработаны с помощью пакета статистических программ Microsoft Excel.

В ходе исследований установлена специфическая реакция различных сортов диплоидной гречихи на накопление антоцианов и формирование элементов структуры урожая. Как известно, антоцианы обладают антиоксидантной активностью в условиях различных стрессовых воздействий, таких как экстремальные температуры, засуха, озон, дефицит азота и фосфора и др. Анализ содержания антоцианов показал, что по сравнению с контролем, в Режиме 1 (с. Феникс), достоверно увеличился их уровень в 4,85 раза. Выявлено, что у с. Аметист все изучаемые режимы тормозили накопление антоцианов в стеблях. В с. Ланнея, наблюдается достоверное увеличение содержания антоцианов в Режиме 3 в 1,78 раза, тогда как изменение данного параметра под влиянием других режимов достоверно не отличались от контроля.

Анализ элементов структуры урожая показал, что в с. Феникс наблюдается увеличение числа боковых побегов в 1,2 (Режим 1), 1,1 раза (Режим 2, 3) соответственно, и в с. Аметист в 1,1 раза для всех Режимов. В с. Аметист достоверно увеличивается масса 1000 семян и всхожесть в 2,37 и 1,68 раза (Режим 3) соответственно. Наибольшей высотой характеризуются растения с. Ланнея (Режим 2, 3) и с. Аметист (Режим 2, 3).

Таким образом, низкоинтенсивное электромагнитное излучение может рассматриваться как фактор повышающий устойчивость диплоидной гречихи. Однако выявлена высокая избирательность действия ЭМИ в зависимости от режима воздействия и сортов особенностей данной культуры.

### **Эффективность инокуляции ризобактериями луковиц *Allium cepa* и *Allium sativum***

**Сушкевич Анна Владимировна**

*РГПУ им. А. И. Герцена, Россия, Санкт-Петербург*  
[torvinion-ann@mail.ru](mailto:torvinion-ann@mail.ru)

В настоящее время все больше приобретают популярность идеи биологизации всей хозяйственной и производственной деятельности, т.к. повсеместное применение пестицидов и агрохимикатов усиливает процессы загрязнения агроэкосистем и деградацию почвы. Особенно наглядно необходимость биологизации видна на феномене стратегической беспомощности химической защиты растений, которая наносит урон

окружающей среде. В этих условиях совершенно естественен переход к применению бактериальных препаратов. С их помощью может улучшаться минеральное питание растений и оптимизироваться ростовые процессы, а также улучшается качество почвы.

Луковичные культуры наравне с зерновыми и корнеплодными растениями имеют важное значение в сельском хозяйстве России. Поэтому целью нашего опыта явилось определение влияния бактериальных препаратов на ростовые показатели и продуктивность лука репчатого (*Allium cepa* L.) сорта Центурион и чеснока посевного (*Allium sativum* L.) сорта Гарпек. Из бактериальных препаратов нами использовались азоризин (*Azospirillum lipoferum*, штамм 137), мизорин (*Arthrobacter mysorens*, шт. 7), флавобактерин (*Flavobacterium sp.*, шт. 30) и экстрасол (*Pseudomonas fluorescens*, шт. 2137).

По результатам исследования нами было отмечено увеличение высоты листа растений лука репчатого и чеснока при применении всех бактериальных препаратов. Максимальное увеличение для обеих культур по данному параметру наблюдалось при использовании экстрасола (до 42,1% и до 54,2% относительно контроля соответственно). Следующим показателем, который мы рассматривали в данном опыте, было количество листьев. По нашим наблюдениям наилучший эффект по данному показателю отмечался при использовании экстрасола (до 50,4% и до 25,6%, относительно контроля, соответственно). При анализе продуктивности растений нами были получены следующие данные – общая продуктивность сырой массы листьев и луковиц значительно увеличилась во всех опытных вариантах относительно контрольных данных. При выращивании лука репчатого наилучший эффект в увеличении зеленой биомассы оказало применение флавобактерина – до 64 % к контролю, при выращивании чеснока зеленая биомасса увеличилась при использовании экстрасола – до 72,3% к контролю. Наиболее важным показателем по продуктивности биомассы является урожайность биомассы реп лука и головок чеснока. Наилучший результат продемонстрировал вариант с экстрасолом: для лука 162 ц/га по сравнению с 70,9 ц/га контроля, и для чеснока – 69,9 ц/га, по сравнению с 37,8 ц/га контроля. Еще одним рассмотренным нами параметром являлась биологическая активность листьев лука репчатого по показателю интенсивности дыхания. Наибольшей биологической активностью по интенсивности выделения углекислоты характеризуется вариант с использованием флавобактерина – 30,9 мг CO<sub>2</sub> на 1 г сырой массы за 1 час. Другие бактериальные препараты так же оказали положительный эффект по отношению к контролю (24,7 мг CO<sub>2</sub> на 1 г сырой массы за 1 час).

По результатам нашей работы можно сделать вывод, что все бактериальные препараты оказывают положительный эффект при выращивании репчатого лука сорта Центурион и чеснока сорта Гарпек, что проявилось в увеличении ростовых показателей, продуктивности и урожайности в сравнении с контрольными вариантами.

Наиболее подходящими биопрепаратами для выращивания лука репчатого оказались флавобактерин и экстрасол, а для выращивания чеснока – экстрасол, что может быть связано с наибольшей комплементарностью данных ризобактерий к корневым выделениям исследованных нами культур.

### **Влияние микробного препарата Эмбико® на проращивание семян и рост сеянцев огурцов, выращенных в почвенной культуре**

**Татаренко Яна Игоревна**

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования «КРЫМСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
имени В.И. Вернадского», Крым, Симферополь

E-mail: [tatarenkoyana1@mail.ru](mailto:tatarenkoyana1@mail.ru)

Применение экологически чистых препаратов, способствующих ускорению роста и развития культурных растений, и их обязательное биотестирование является актуальнейшей проблемой в связи с усилением химизации сельского хозяйства. Один из таких биопрепаратов – микробный инокулят Эмбико<sup>®</sup>, основу которого составляют молочнокислые и фототрофные бактерии, а также дрожжи. Цель данной работы – изучить влияние микробного препарата Эмбико<sup>®</sup> на прорастание семян и рост сеянцев огурцов (*Cucumis sativus* L.) сортов Конкурент и Феникс, выращенных в почвенной культуре.

Для определения энергии прорастания, всхожести, дружности и скорости прорастания семена огурцов проращивались в термостате при 20-30 °С на фильтровальной бумаге, смоченной отстоянной водопроводной водой (контрольный вариант) или исследуемым биопрепаратом в разведениях 1 : 10, 1 : 100, 1 : 500, 1 : 1000, 1 : 2000. Динамика роста сеянцев изучалась в лабораторно-вегетационном опыте при выращивании их в почвенной культуре; полив растений осуществлялся отстоянной водопроводной водой (контрольный вариант) или биопрепаратом Эмбико<sup>®</sup> в соответствующих разведениях.

Установлено, что семена огурцов сортов Конкурент и Феникс обладали высоким ростовым потенциалом: энергия, скорость и дружность прорастания, а также всхожесть семян при использовании высоких разведений микробного препарата Эмбико<sup>®</sup> были на уровне контрольных значений. Выявлена сортовая специфика ответной реакции огурцов на внесение Эмбико в среду выращивания: более отзывчив сорт Конкурент.

Выраженное ускорение роста под влиянием Эмбико<sup>®</sup> отмечено при использовании его высоких разведений (1 : 1000 и 1 : 2000), низкие разведения (1 : 10, 1 : 100) ингибировали ростовые процессы. Ростстимулирующий эффект препарата Эмбико<sup>®</sup> сохранялся на протяжении всего периода выращивания растений, что выражалось в увеличении величины основных морфометрических показателей: так, при однократном внесении биопрепарата с поливной водой в почву высота 15-дневных сеянцев огурцов сорта Конкурент была в среднем на 22 % выше, чем в контрольном варианте.

Сеянцы огурцов, выращенные в качестве рассады в почвенной культуре в лабораторно-вегетационных условиях, были пересажены в теплицу (закрытый грунт). Приживаемость 20-дневной рассады из опытных вариантов после пересадки была 100 %-ной. Растения быстро перешли к активной вегетации, сформировав мощный листовый аппарат, и зацвели на 4-6 дней раньше контрольных

Таким образом, на основании полученных результатов можно сделать заключение о том, что внесение микробного препарата Эмбико<sup>®</sup> в среду выращивания растений огурцов является эффективным биотехнологическим приемом повышения качества посадочного материала и ускорения роста рассады.

## **Инсерция гена грибной лакказы в трансгенных растениях осины**

***Тугбаева Анастасия Сергеевна***

*ФГАОУ ВПО Уральский федеральный университет им. первого Президента России*

*Б.Н.Ельцина, Институт естественных наук, Россия, Екатеринбург*

*E-mail: anastasia.tugbaeva@gmail.com*

Лигнин – сложный биополимер, является неотъемлемым компонентом древесины. Исследования многих лабораторий направлены на изучение механизмов полимеризации монолигнолов до лигнина и ферментов, осуществляющих эти превращения. Изучение роли лакказ в растениях позволит понять конечные этапы синтеза биополимера. С другой стороны, снижение содержания лигнина в древесине ограничит загрязнение окружающей среды техническими лигнинами и сделает производство продуктов целлюлозно-бумажной промышленности менее затратным.

В группе лесной биотехнологии ФИБХ г. Пущино была проведена агробактериальная трансформация осины бинарным вектором pVI, несущим ген грибной

лакказы *lac 072*. Экспрессия целевой конструкции находилась под контролем 35S промотора. Из полученных клонов была выделена тотальная ДНК. Проведенный ПЦР-анализ показал инсерцию целевой конструкции в 17 линиях осины, встройку селективного гена *nptII* в 29 линиях, отсутствие агробактериальной кантамации. С помощью метода ОТ-ПЦР была подтверждена экспрессия целевого гена.

Нами был проведен анализ 17 линий осины: выделен рекомбинантный фермент лакказы и измерена его активность в растениях *in vitro* и *in vivo*; проведены биометрические исследования 4-х месячных растений *in vivo*; посчитано укоренение растений в условиях *in vitro* (среднее количество корней на растение, средняя длина корней, процент укоренения на 12 сутки эксперимента).

Анализ ферментативной активности рекомбинантной лакказы показал ее увеличение в растениях *in vitro* у 7 линий на 26-120% по сравнению с контролем; в растениях *in vivo* увеличение у 9 линий на 14-40%. Наблюдается корреляция между повышением активности лакказы *in vitro* и *ex vitro*. В результате биометрического анализа, показано, что высота растений *ex vitro* у 5 линий выше контроля до 26,5%; для 6 линий высота ниже контроля до 70,9%. Укоренение в условиях *in vitro* на уровне контроля у 9 линий (80-100%), для 5 линий достоверно ниже контроля (20-40%). Показана корреляция между увеличением ферментативной активности, высоты растений, укоренения.

Таким образом, инсерция гена рекомбинантной лакказы может вызывать изменение высоты растений, влиять на эффективность укоренения и элонгацию корней в условиях *in vitro*.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 14-08-31667.*

*Автор выражает благодарность Ковалицкой Юлии Андреевне, Шестибратову Константину Александровичу (группа лесной биотехнологии ФИБХ, г. Пущино, МО) за помощь в проведении исследований.*

**Изменение содержания клетчатки в листьях и стеблях роз после фоллиарной обработки растений наночастицами серебра в условиях защищенного грунта**

**Фастовец Илья Александрович, Горшкова Ксения Владиславовна**

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,*

*факультет почвоведения, Россия, Москва,*

*E-mail: fastovetsilya@yandex.ru*

В настоящее время нанотехнологии являются объектом повышенного интереса, о чем свидетельствует внушительный мировой финансовый оборот в этой отрасли. Наряду с различными производствами наночастицы (NPs) находят свое применение и в растениеводстве. Многие вопросы о поведении и трансформации NPs в системах растений остаются нераскрытыми, в частности, оценка роли клеточных стенок растений в концентрировании NPs. Среди всего разнообразия коммерчески доступных наноматериалов наночастицы серебра (AgNP) являются наиболее используемыми.

Целью настоящей работы являлось исследование влияния фоллиарной обработки роз AgNP на изменение содержания клетчатки в листьях и стеблях роз, как показателя их устойчивости к фитопатогенам в условиях защищенного грунта.

Исследования проводили в теплице совхоза декоративного садоводства «Ульяновский» на розах сорта *Zaria*. Черенки растений длиной  $\approx 5$  см с развитой корневой системой и 2-3 сложными листьями, высаживали в смешанный грунт, состоящий из заправленного питательными элементами торфа и агроперлита в соотношении 1:3, в сосуды объемом 1,2 л. Фоллиарную обработку растений проводили до их полного смачивания через каждые две недели, всего было 5 обработок. В качестве стабилизаторов наночастиц использовался цитрат или амфополикарбоксихлорид натрия (7ТХ). Схема опыта состояла из пяти вариантов: 1. Контроль (без обработок); 2. 25 мг/л AgNP- цитрат; 3. 400 мг/л 7ТХ; 4. 25 мг/л AgNP+ 400 мг/л 7ТХ; 5. 100 мг/л AgNP+ 800мг/л 7ТХ. Содержание клетчатки определяли весовым методом.

По результатам анализа содержание клетчатки в стеблях составило для вариантов 1-5, соответственно (%±SD): 32,33±0,62; 34,29±0,98; 28,66±0,78; 36,68±1,66; 31,52±0,07. В листьях: 14,23±2,18; 14,73±1,12; 13,23±0,27; 15,25±0,46; 14,14±1,30. При сравнении вариантов 1, 3 и 4 было показано, что 7ТХ уменьшает содержание клетчатки, а серебро увеличивает.

Таким образом, обработка наночастицами серебра может повышать устойчивость растения к фитопатогенам за счет увеличения содержания клетчатки в клеточных стенках.

### **Влияние цитокининов на рост корня на клеточном уровне**

**Филин Алексей Николаевич**

*физиологии растений им. К.А.Тимирязева Российской Академии наук,*

*E-mail: FilinAlexej@yandex.ru*

Известно, что цитокинины при очень малых концентрациях могут незначительно стимулировать рост корня, но при больших концентрациях, которые стимулируют рост надземных органов, они ингибируют его рост. Однако не изучено, в какой степени они влияют на деление клеток корней, переход их к растяжению и само растяжение, и данные по этому вопросу противоречивы. Задача нашей работы была в прямом определении длительности циклов в корнях мутантов по синтезу цитокининов, в которых их концентрация была снижена, и растений, растущих на средах с добавлением транс-зеатина.

Были изучены корни растений дикого типа, выращенных на среде с добавлением транс-зеатина, и корни мутанта ipt3,ipt5,ipt7 с локально нарушенным синтезом цитокининов. Длительность клеточного цикла (Т) рассчитывалась по формуле, разработанной В.Б. Ивановым:  $T = (\ln 2 * Nm * L) / V$ , где Nm – число меристематических клеток в одном ряду, L – длина закончивших рост клеток и V – скорость роста корня.

Корни у мутанта по синтезу цитокининов были длиннее более чем в 2 раза по сравнению с диким типом и более чем в 10 раз по сравнению с диким типом, выращенным на среде с добавлением транс-зеатина. При этом число клеток в меристеме корня у мутанта было больше, чем в других вариантах опыта. Вычисленные значения длительности клеточного цикла показали, что у мутанта длительность клеточного цикла была в среднем на 5 часов короче, чем у дикого типа, и более чем в 2 раза короче, чем у корней, обработанных фитогормоном.

Данные, полученные в результате расчёта скорости клеточного цикла, убедительно показывают, что в корнях мутанта ipt3,ipt5,ipt7, увеличение скорости роста по сравнению с корнями дикого типа определяется сокращением продолжительности клеточного цикла, а не ускорением перехода к дифференциации. Результаты также дают основание полагать, что транс-зеатин в высоких дозах приводит к замедлению деления клеток.

Можно с уверенностью сказать, что сделанный другими исследователями вывод о том, что цитокинины оказывают влияние только на переход клеток к растяжению, неверен. Поэтому представляет большой интерес выяснить механизм замедления пролиферации при действии цитокининов.

*Работа выполнена при частичной поддержке гранта РФФИ № 12-04-00745а*

### **Этилен сопровождает пролиферацию культивируемых клеток растений или участвует в её регуляции?**

**Фоменков Артём Алексеевич**

*Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской Академии наук,*

*Россия, Москва*

*Artem.Fomenkov@gmail.com*

Этилен – один из пяти классических фитогормонов растений – участвует в регуляции многих физиологических процессов. Однако существуют противоречивые

сведения о влиянии этилена на рост и деление клеток. При этом, давно показано, что при работе с изолированными культурами клеток и тканей, в зависимости от вида растения и условий выращивания, в культуральных сосудах увеличивается концентрация этилена до нескольких десятков мкл/л а физиологические эффекты этилена обнаруживаются при меньших на два-три порядка концентрациях. В связи с этим, мы исследовали корреляцию между ростовыми параметрами и синтезом этилена в культурах клеток растений. Для решения указанных задач мы использовали стабильно растущие суспензионные культуры клеток *Ajuga turcestanika*, *Arabidopsis thaliana*, *Beta vulgaris*, *Euonymus maximoviczianus*, *Medicago sativa*, *Panax ginseng*, *Triticum timopheevii*. Ростовые характеристики определяли стандартными методами. Производство этилена определяли в газовом хроматографе Цвет 106 с пламенно-ионизационным детектором. Количество ядер, синтезирующих ДНК, выявляли по включению 5-этинил-2'-дезоксидуридина, выявляемого в Click-iT реакции с азидом Alexa Fluor 488. Нами было показано, что в культуре клеток *A. thaliana* S-фазный индекс имеет два пика, которые совпадают с интенсивностью выделения этилена. Для ряда других культур мы обнаружили высокую корреляцию ( $r = 0.97$ ) между максимальной удельной скоростью роста по сухому весу и продукцией этилена в логарифмической фазе роста. В экспериментах с экзогенным добавлением этилена и ингибитора его связывания с рецепторами (1-MCP; 1-метилциклопропен) было показано, что 1-MCP подавляет пролиферацию клеток *A. thaliana*, а этилен либо не влияет, либо незначительно способствует пролиферации культивируемых клеток в зависимости от фазы роста суспензионной культуры. Таким образом, наши экспериментальные данные свидетельствуют о том, что этилен участвует в регуляции пролиферации культивируемых клеток растений.

*Работа выполнена при частичной поддержке гранта РФФИ № 14-04-00333.*

### **Устойчивость сортообразцов озимых тритикале к засухе**

***Хабиева Надира Абдурашидовна***

*Дагестанский государственный университет, биологический факультет, Россия,  
Махачкала*

*E-mail: nadira.xabieva@mail.ru*

Изучение засухоустойчивости гибрида ржи и пшеницы – тритикале, перспективной сельскохозяйственной культуры, является малоизученной проблемой и особенно актуальной в связи с агроэкологическими особенностями регионов ее возделывания, в частности, аридного Дагестана. Объектами исследования служили выделенные по урожайности и комплексу других хозяйственно – ценных признаков сортообразцы тритикале из коллекции Дагестанской опытной станции ВИР им. Н.И. Вавилова: Алмаз, Сотник, *Florias*, Зимогор и Каскад\*ПП511. Оценку засухоустойчивости проводили в лабораторных условиях путем проращивания семян в растворах сахарозы 3,8% (3 атм) и 8,7 % (7 атм). На пятые сутки определяли всхожесть, число корней, длину и массу корней и надземной части и содержание пролина. Опыты проводили в двукратной повторности, каждый вариант включал 3 чашки Петри, в каждую стерильную чашку Петри с 5 мл раствора сахарозы или водой (контроль) помещали по 20 зерновок. Семена проращивали в климатической камере (MLR-352H) при температуре  $23 \pm 1^{\circ} \text{C}$ , освещении – 3000 люкс и влажности 80%.

Изученные образцы характеризовались высокой (100%) всхожестью семян в контроле и разной степенью ее снижения в условиях модельной засухи. Так, более высокая всхожесть наблюдалась у с. Алмаз и Зимогор: в растворе сахарозы с осмотическим давлением 7 атм она составила соответственно 78 и 83%, а в варианте с осмотическим давлением 3 атм – 90%. Наименьшую всхожесть отметили у с. Сотник, у которого эти показатели составили соответственно 50 и 70 %. Культивирование проростков тритикале в растворах сахарозы подавляло прирост корней и надземной части у всех сортообразцов, наибольшее снижение этих показателей наблюдалось у с.

Каскад\*ПГ511 и Сотник, а наименьшее – у с. Алмаз. У с. Алмаз в условиях модельной засухи наблюдался и наибольший прирост биомассы корней и надземной части. При этом наиболее интенсивная аккумуляция пролина в тканях проростков происходила у сорта Сотник. Таким образом, комплексная оценка засухоустойчивости сортообразцов позволила выявить большую устойчивость у с. Алмаз, наименьшую – с. Сотник.

*Автор выражает благодарность в.н.с. ДОС ВИР им. Н.И. Вавилова, д.б.н. Куркиеву К.У. за предоставленные для работы сортообразцы тритикале.*

### **Эффекты предпосевного $\gamma$ -облучения семян *Hordeum Vulgare* L.**

**Чурюкин Роман Сергеевич**

**Казакова Е.А., Гераськин С.А.**

*ФГБНУ ВНИИРАЭ, Россия, Обнинск,*

*r.churyukin@mail.ru*

Одним из основных направлений использования радиационных технологий в сельском хозяйстве является предпосевная обработка семян – технология, в основе которой лежит феномен радиационного гормезиса. Однако многие вопросы использования предпосевной обработки семян остаются нерешенными, ответ на которые можно получить после комплексных исследований на разных уровнях биологической организации.

Облучение семян ярового ячменя сорта НУР производили на гамма-установке ГУР-120. Сажали семена методом рулонов фильтровальной бумаги с модификациями. Полевой эксперимент и оценку структуры и качества урожая проводили согласно рекомендациям.

Показан эффект  $\gamma$ -облучения семян на ранних этапах онтогенеза. Увеличение длины ростка и корешка при дозе 8-20 Гр (60 Гр/ч) у проростков семян 1ой репродукции. На массу корневой системы проростков облучение семян не повлияло. При мощности дозы 20 Гр/ч и 350 Гр/ч эффект гормезиса не наблюдается. Для оценки того, как стимуляция развития растений на ранних этапах онтогенеза сказывается на их продуктивности и качестве урожая, был проведен полевой эксперимент и получены следующие результаты: увеличение высоты стеблей растений (10,4%, 8 Гр); увеличение кустистости (16, 20 Гр); увеличение числа стеблей с колосьями (8, 20 и 50 Гр); увеличение массы 1000 семян на 11 и 15,7% при дозе в 16 и 20 Гр. При оценке и пересчете урожая в ц/га, возможна прибавка на 37, 34, 38 и 37% при облучении семян дозами 8, 16, 20 и 50 Гр. Анализ качества урожая показал уменьшение уровня клетчатки (14,6%) при дозе 20 Гр и сухого вещества (1,2%) при дозе 50 Гр, а так же увеличение уровня протеинов (9,7%) и жиров (14,1%) при облучении дозой 50 Гр в зерне. В соломе изменялся уровень клетчатки:  $\uparrow$ 4,3%,  $\uparrow$ 3,8% и  $\downarrow$ 2,2% при дозах 8, 16 и 50 Гр соответственно.

Результаты показывают наличие стимулирующего эффекта предпосевного  $\gamma$ -облучения семян в дозе 8-20 Гр, что позволяет проводить дальнейшие исследования по изучению механизмов его формирования.

### **Динамика содержания фитогормонов в развивающемся и прорастающем семени *Cyripedium calceolus* L.**

**Шейко Елена Анатольевна.**

*Институт ботаники имени Н.Г. Холодного НАН Украины, Украина, Киев*

*lenasheyko@mail.ru*

Для семян многих растений характерно состояние покоя. Органический покой связан со свойствами зародыша (эндогенный покой) или покровов семени (экзогенный покой). Семена *Cyripedium calceolus* L. обладают затрудненным прорастанием в культуре *in vitro*, что, по-видимому, является следствием их глубокого покоя. Целью настоящей работы являлось выявление типа покоя семян *C. calceolus* и факторов,

лимитирующих их прорастание. Для этого было проведено изучение содержания свободных и связанных форм индолилуксусной кислоты (ИУК), абсцизовой кислоты (АБК) и цитокининов (ЦТК) в процессе формирования семени. Для контроля было сделано морфологическое описание стадий. Первая стадия развития семени соответствовала ранним этапам эмбриогенеза (2-6-клеточному зародышу), вторая – сформированному многоклеточному зародышу незрелого семени, третья – зрелому семени.

Фракцию гормонов выделяли 80%-ным этанолом, спирт упаривали. Водный остаток промораживали, центрифугировали при 10000 g, супернатант экстрагировали диэтиловым эфиром при pH 2,5 (ИУК и АБК) и бутанолом при pH 8 (ЦТК). Уровни связанных ИУК и АБК оценивали после химического гидролиза. Фракции ИУК и АБК очищали с помощью кислотнo-щелочной переэкстракции и ТСХ на пластинах Silufol UV-254 (Kavalier, Чехия) в системе растворителей хлороформ:этилацетат:уксусная кислота (70:30:5). Очистку ЦТК проводили с помощью ионообменной хроматографии на колонке Дауэкс 50Wx8 (H<sup>+</sup>-форма, элюция аммиаком) и ТСХ в системе изопропанол:аммиак:вода (10:1:1). В качестве стандартов использовали препараты фитогормонов фирмы Sigma (США). Окончательный анализ качественного и количественного содержания фитогормонов проводился методом ВЭЖХ на жидкостном хроматографе Agilent 1200 LC с диодно-матричным детектором G 1315 B (США), колонка Eclipse XDB-C 18 2,1×150 мм, размер частиц 5 мм. Элюция проводилась в системе растворителей метанол:вода (37:63). Анализ и обработка хроматограмм проводилась с программным обеспечением Chem Station, версия B.03.01 в режиме *on line*.

Уровень ИУК снижался от ранних к средним стадиям зрелости семян в 6 раз, и вновь возрастал в 9 раз к поздним. Концентрация свободных форм цитокининов на первой и второй исследуемых стадиях изменялась незначительно и снижалась в 3,2 раза на третьей. В семенах, зародыши которых находились на ранних стадиях развития, содержалось небольшое количество АБК (44,9 пМ/г сырого веса). Далее, к стадии незрелого семени, уровень гормона возрастал в 4,1 раза. Зрелые семена отличались чрезвычайно высокой концентрацией АБК, превышающей таковую на предыдущей стадии в 197,9 раз. Столь высокий уровень АБК, по-видимому, свидетельствует о наличии глубокого физиологического покоя семян *C. calceolus*.

Затрудненное прорастание семян *C. calceolus*, вероятно, может быть связано с большей степенью зависимости ранних стадий эмбриогенеза от цитокининов, так как эндогенное их содержание было очень низким. С другой стороны, гипераккумуляция АБК на фоне низкой концентрации других гормонов в зрелых семенах данного вида также является одной из причин отсутствия прорастания. Таким образом, для семян *C. calceolus* характерен эндогенный (физиологический) покой.

## **Оценка стрессоустойчивости растений календулы лекарственной обработанной электромагнитным излучением миллиметрового диапазона**

**Шин Светлана Николаевна**

ГНУ "Центральный ботанический сад НАН Беларуси", Беларусь, Минск

E-mail: cazonovacv@mail.ru

Одним из ведущих факторов, ограничивающих рост, развитие и продуктивность растений в условиях умеренных широт, является температура. Анализ суточных климатических данных показывает, что для условий Беларуси характерны частые снижения температуры до 8-12°C на несколько часов в ранневесенний и осенний периоды вегетации, что свидетельствует о важности формирования холодостойкости при адаптации растений к условиям умеренных широт. Календула лекарственная (*Calendula officinalis*) относится к холодоустойчивым растениям, в осенние периоды спокойно переносит понижение температуры до – 5°C. Однако на ювенильном этапе

развития продолжительное воздействие температур близким к 0°C, может пагубно сказаться дальнейшем развитии растения. Поэтому повышение устойчивости растений к холоду, актуально для климатических условий Беларуси.

Для оценки устойчивости контрольных и обработанных растений *C. officinalis* к действию низких положительных температур использовали 7-ми дневные проростки, которые выдерживали 22 часа в холодильнике при температуре от 6-10°C, предварительно определив уровень сахаров по методике Бертрана. После воздействия низкими положительными температурами вновь определили уровень олигосахаров. В качестве стимулирующего фактора на семена календулы было выбрано электромагнитное воздействие, которое проводилось в Институте ядерных проблем БГУ на лабораторной установке для микроволновой обработки семян различных сельскохозяйственных культур в широком частотном диапазоне (от 53 до 78 ГГц) с плавной регулировкой мощности от 1 до 10 мВт.

В результате анализа уровня олигосахаров в 7 дневных проростках установлено увеличение количества сахаров на 18,9% по сравнению с контролем после обработки нетепловым электромагнитным полем миллиметрового диапазона мощностью 10 мВт (ЭМИ) с частотой обработки 54-78 ГГц продолжительностью 20 минут (режим 1). Увеличение количества сахаров у растений, обработанных режимом 1, свидетельствует о повышении их чувствительности и активизации аминолитических ферментов вызывающих распад крахмала. Количество сахаров при обработке режимом 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) одинаково и меньше контрольного на 6%. Продолжительное воздействие низких положительных температур приводило к возникновению другой зависимости между контрольными и обработанными растениями. Установлено, что уровень сахара во всех режимах выше контрольного значения. Максимальное увеличение содержания сахара после обработки режимом 3 в 2 раза превышают контрольные значения. Режим 1 вызывает увеличение сахаров на 31,3%, а режим 2 – на 18,8% по отношению к контролю. Полученные результаты свидетельствуют о специфичности накопления низкомолекулярных сахаров при воздействии режима 3 на семена календулы. Режим 1 изначально вызывает резкое увеличение сахаров, что в дальнейшем позволяет ювенильным проросткам с меньшими затратами ресурсов переносить холодное воздействие.

Показано, что воздействие ЭМИ на семена календулы приводит к изменениям в составе низкомолекулярных углеводов проростков, зависящем от продолжительности и характера воздействия.

*Автор выражает благодарность к.ф.-м.н. В.А. Карповичу, м.н.с. Н. С. Пушкиной за помощь в проведении обработки семян.*

### **Корневые экссудаты нута (*Cicer arietinum* L), как ключевой фактор его урожайности при применении биопрепаратов**

***Шурыгин Вячеслав Владимирович***

*Научный сотрудник*

*Национальный Университет Узбекистана имени Мирзо Улугбека,*

*Биолого-почвенный факультет, Узбекистан, Ташкент*

*E-mail: slaventus87@inbox.ru*

Уже на протяжении многих лет при выращивании бобовых культур применяются различные биопрепараты, такие как «Нитрагин», «Ризоторфин» и другие, однако до сих пор не совсем ясными остаются причины более или менее высокой урожайности культур разных сортов. Целью наших исследований являлось изучение состава корневых экссудатов нута и их влияния на хемотаксис бактериальных штаммов *Mesorhizobium ciceri*-4 и *Pseudomonas chlororaphis*-66.

Для исследований использовали два сорта нута - «Hisor-32» и «CIEW-45». Ранее нами были проведены полевые испытания по инокуляции семян этих двух сортов вышеуказанными штаммами бактерий. В результате урожайность обоих сортов повысилась, однако у сорта «Hisor-32» она оказалась почти в 4 раза ниже, чем у сорта «CIEW-45». Мы изучили и сравнили качество и количество корневых экссудатов, выделяемых этими сортами.

В результате исследований выявлено, что в течение первых 10 дней с начала появления корней у семян нута, корни одного проростка сорта «CIEW-45» секретируют 106 мкг экссудатов, а сорта «Hisor-32» - 83,5 мкг. Соотношение катионной (аминокислоты), анионной (сахарные кислоты) и нейтральной (сахара) фракций, из которых состояли экссудаты, также различалось у двух сортов. Так у сорта «Hisor-32» содержание катионной фракции было на 4,1% меньше, чем у сорта «CIEW-45», содержания анионной фракции у сорта «Hisor-32» было на 1% выше, содержание нейтральной фракции в корневых экссудатах сорта «Hisor-32» было на 3% выше. У сорта «Hisor-32» гораздо более низким было содержание гистидина и глюконовой кислоты. Штаммы бактерий *Mesorhizobium ciceri*-4 и *Pseudomonas chlororaphis*-66 осуществляли более активный хемотаксис к корневым экссудатам нута сорта «CIEW-45», что проявлялось в более быстром накоплении клеток в среде с экссудатами этого сорта, по сравнению с сортом «Hisor-32».

Все эти различия в количестве экссудатов и соотношении их компонентов влияют на хемотаксис, установление симбиоза и колонизацию корней штаммами вносимых бактерий, что в конечном счёте влияет на конечный урожай того или иного сорта нута.

### **Влияние салициловой и жасмоновой кислот на устойчивость каллусов картофеля к *Phytophthora infestans***

**Яруллина Лилия Маратовна**

*Башкирский государственный университет, биологический факультет, Россия, Уфа*

*E-mail: Lilechek89\_89@mail.ru*

Известно, что медиаторы сигнальных систем - салициловая (СК) и жасмоновая (ЖК) кислоты, играют ключевую роль в индуцировании НАДФН-оксидазной и липоксигеназной сигнальных систем растений. Поскольку СК и ЖК положительно влияют на устойчивость растений к возбудителям заболеваний и способствуют повышению их продуктивности, эти соединения находят достаточно широкое применение в сельскохозяйственной практике. В то же время, механизмы формирования защитного ответа под воздействием СК и ЖК в различных патосистемах не достаточно изучены.

Удобной моделью для изучения механизмов развития устойчивости растений к патогенам под воздействием сигнальных молекул являются каллусы картофеля, на которых можно наблюдать развитие патогенного гриба *Ph. infestans* на экто- и эндофитных стадиях развития. СК и ЖК в концентрации  $10^{-5}$  М и  $10^{-7}$  М вносили в среду культивирования каллусов, которые инфицировали суспензией зооспор *Ph. infestans*  $10^5$  спор/мл. Каллусы фиксировали в смеси этанола и уксусной кислоты (3:1). Срезы окрашивали 1.0 % раствором метиленового синего, заключали в канадский бальзам и изучали под микроскопом Imager M1. Выделение РНК из растительных тканей проводили по методу Chomezynski с модификациями. В работе были использованы высокоспецифичные праймеры к гену ингибитора протеиназы *S. tuberosum*.

Наблюдения за ростом *Ph. infestans* на каллусах картофеля позволили установить, что через 24 ч после инокуляции гифы гриба представляли собой тонкие, ветвящиеся нити. Глубина проникновения гриба в каллусы составляла около трети их диаметра. Культивирование каллусов на средах, содержащих СК и ЖК, тормозило рост гриба. При этом гифы патогена росли поверхностно и были утолщены. Защитная реакция растений сопровождалась синтезом ингибиторов гидролитических ферментов. Уровень

транскрипционной активности гена ингибитора протеиназы в клубнях картофеля достоверно возрастал по сравнению с контролем через 48 ч после инфицирования. Максимально высокой экспрессия гена ингибитора протеиназы была в каллусах, обработанных ЖК как здоровых, так и зараженных фитофторой.

Таким образом, защитное действие СК и ЖК против *Ph. infestans* обусловлено изменением морфологии мицелия патогенного гриба и снижением его проникающей способности в ткани картофеля. ЖК оказывает также высокое стимулирующее действие на транскрипционную активность гена ингибитора протеиназы.

*Исследования поддержаны грантом МОН (Госконтракт № 01201456414).*