

Эпигенетический механизм регуляции функционирования 2ОГДК в листьях кукурузы при низких концентрациях кислорода**Научный руководитель – Епринцев Александр Трофимович***Анохина Г.Б.¹, Седых А.В.², Уваров А.А.³*

1 - Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия, *E-mail: dowi2009@mail.ru*; 2 - Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия, *E-mail: vtrin@icloud.com*; 3 - Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия, *E-mail: andrey.uvarov.97@mail.ru*

Естественная среда обитания многих растений нередко подвержена затоплению, которое приводит к недостатку кислорода в почве, вызывая значительные изменения в функционировании ЦТК. 2-оксоглутаратдегидрогеназный комплекс (2ОГДК, КФ 1.2.4.2) - мультиферментная система, включающая 3 независимых энзима: 2-оксоглутаратдегидрогеназу (ОГДГ, К.Ф. 1.2.4.2.); дигидролипоямидсукцинилтрансферазу (ДЛСТ, К.Ф. 2.3.1.61); липоямиддегидрогеназу (ЛАДГ, К.Ф. 1.8.1.4.). Известно, что работа некоторых ферментов ЦТК регулируется за счет изменения степени метилирования промоторов их генов[2]. Целью работы являлось исследование эпигенетического механизма регуляции функционирования 2ОГДК в листьях кукурузы при низких концентрациях кислорода. Использовали листья (10 дн.) кукурузы с. Воронежская-76, выращенной гидропонно при десятичасовом световом дне. Действие низких концентраций кислорода в среде осуществлялось путем помещения растений с удаленной корневой системой на 24 ч в сосуд с N₂ или CO₂. В первые часы инкубации растений в среде CO₂ наблюдали значительное падение общей ферментативной активности 2ОГДК в сравнении с контрольной группой. К 6 часу ферментативная активность восстановилась до уровня контроля, и в дальнейшем продолжала увеличиваться. Растения, инкубация которых осуществлялась в среде N₂, демонстрировали увеличение активности 2ОГДК с первого часа.

Анализ транскрипционной активности генов ОГДГ показал корреляцию изменения общей активности и индукции экспрессии генов *ogdh-1*, *ogdh-2*, *ogdh-3* в атмосфере N₂. CO₂ в первые часы эксперимента приводил к падению относительного уровня транскриптов этих генов и изменению активности энзима. Начиная с 3 часа инкубации экспрессионная активность генов *ogdh-1* и *ogdh-2* восстанавливалась до контрольных значений и в дальнейшем продолжила расти, в то время как активность гена *ogdh-3* возросла лишь к 12 часу эксперимента. Значения относительного уровня транскриптов генов ОГДГ у контрольной группы оставались на постоянном уровне.

Установлено, что изменения транскрипционной активности генов *ogdh-1* и *ogdh-3* сопряжены с изменением степени метилирования CpG-динуклеотидов их промоторов. Увеличение экспрессии генов сопровождалось снижением степени метилирования, в то время как падение значений относительного уровня транскриптов характеризовалось увеличением степени метилирования промоторов.

Таким образом, низкие концентрации кислорода вызывают увеличение активности 2ОГДК, однако, превалирование в газовой среде CO₂ приводит к первичному ингибированию активности, что, вероятно, связано с тем, что высокий уровень углекислоты может являться ингибитором реакции декарбоксилирования, осуществляемой ОГДГ. Наличие в среде N₂ способствует активации исследуемого комплекса, за счет, вероятно, включения процесса дезаминирования глутамата[1]. Регуляция функционирования 2ОГДК в условиях гипоксии обусловлена эпигенетическим механизмом посредством изменения метильного статуса промоторов генов *ogdh-1* и *ogdh-3*.

Источники и литература

- 1) Araújo, W.L., Nunes-Nesi, A., Trenkamp, S., Bunik, V.I., and Fernie, A.R. (2008). Inhibition of 2-oxoglutarate dehydrogenase in potato tuber suggests the enzyme is limiting for respiration and confirms its importance in nitrogen assimilation. *Plant Physiol.* 148: 1782-1796.
- 2) Eprintsev, A. T., Fedorin, D. N., Dobychnina, M. A., Igamberdiev, A. Expression and promoter methylation of succinate dehydrogenase and fumarase genes in maize under anoxic conditions. *Journal of Plant Physiology.* 2017. V.216.

**Влияние препарата ДАГ-1 на основе глицирризиновой кислоты на
устойчивость хлопчатника к засолению**

Научный руководитель – Хашимова Нигора Рустамовна

Бабаева Дилдора Тўйгуновна

Кандидат наук

Национальный университет Узбекистана, Биолого-почвенный факультет, Кафедра
биохимии, Ташкент, Узбекистан
E-mail: *dildora.babaeva.11@mail.ru*

Одной из основных проблем при возделывании хлопчатника является засоление почв. Влияние засоления проявляется в ухудшении многих свойств и функций хлопчатника, что приводит к снижению его продуктивности. Разработка эффективных технологий при возделывании хлопчатника путем индукции природных защитных механизмов является одним из экологичных и эффективных методов защиты растений.

Повышенная концентрация ионов соли вызывает окислительный стресс, связанный с избыточной генерацией активных форм кислорода (АФК), что является одной из ранних ответных реакций растений на действие засоления [1]. Ферментативная антиоксидантная система играет важную роль в процессах снижения негативного влияния АФК у растений [2].

В Институте биоорганической химии АН РУз был получен препарат ДАГ-1 (супрамолекулярный комплекс глицирризиновой и салициловой кислот) на основе глицирризиновой кислоты из корней солодки *Glycyrrhiza glabra* L., как препарат индуцирующий устойчивость хлопчатника в условиях засоления почв.

Изучали влияние препарата ДАГ-1 в концентрации 10^{-7} мМ на содержание перекиси водорода в 7-суточных проростках неустойчивого сорта хлопчатника С-4727 при воздействии различных концентраций NaCl (50, 100, 200 мМ). Выявлено, что замачивание семян в растворе препарата ДАГ-1 в течение 12 часов приводило к существенному повышению их всхожести и энергии прорастания в условиях солевой нагрузки, при этом защитный эффект препарата ДАГ-1 проявлялся и при концентрации соли 200 мМ. Так же было установлено повышение активности ферментов антиоксидантной системы хлопчатника - супероксиддисмутазы (СОД), пероксидазы (ПО) и в тоже время, снижение активности каталазы (КАТ).

Изучение накопления H_2O_2 в контрольных и обработанных препаратом ДАГ-1 проростках хлопчатника показало увеличение содержания H_2O_2 , особенно при концентрации NaCl 200 мМ. Обнаружена взаимосвязь между СК, активностью КАТ и концентрацией H_2O_2 . Предполагается, что СК в составе препарата ДАГ-1 участвовала в сигнальном каскаде для индукции экспрессии антиоксидантных ферментов СОД и ПО. В то же время СК ингибируя активность КАТ способствовала накоплению H_2O_2 , ведущее к индукции синтеза антиоксидантов.

Наши исследования показали, что предобработка семян хлопчатника препаратом ДАГ-1 и затем подвергнутых солевому стрессу смягчает неблагоприятное влияние засоления на хлопчатник.

Источники и литература

- 1) Гарифзянов А.Р., Жуков Н.Н., Пантюхин Ю.О., Иванищев В.В. Особенности NaCl-индуцированного окислительного стресса и динамики активности антиоксидантных

ферментов в органах тритикале озимого // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. 2012, № 2. С. 9-16.

- 2) Колупаев Ю.Е. Активные формы кислорода в растениях при действии стрессоров: образование и возможные функции // Вестник Харьковского национального аграрного университета. Сер. Биология. 2007, Вып. 3(12). С. 6-26.

Влияние хлоридного засоления в условиях *in vitro* на клетки и ткани формирующихся корней томата сорта Рекордсмен (*Solanum lycopersicum* L.)

Научный руководитель – Халилуев Марат Рушанович

Богоутдинова Лилия Рашидовна

Аспирант

Российский государственный аграрный университет МСХА имени К.А. Тимирязева,
Агрономии и биотехнологии, Генетики и биотехнологии, Москва, Россия

E-mail: strekoza24_01_91@mail.ru

Изменения в клетках корня, вызванные засолением, являются неотъемлемой частью ответных реакций на стресс [1]. Целью исследования являлось изучение влияния NaCl-засоления *in vitro* на морфологию клеток корня проростков томата (*Solanum lycopersicum* L.). Эксплантами служили проростки устойчивого к засолению сорта Рекордсмен, которые культивировали на среде MS без засоления, а затем переносили на среду MS для индукции ризогенеза с концентрациями 0-250 мМ NaCl. Формировавшиеся корни фиксировали для световой и электронной микроскопии, а также иммуноцитохимического выявления α -тубулинового цитоскелета.

В результате исследования зафиксировано снижение частоты ризогенеза по сравнению с контролем при содержании NaCl в питательной среде от 150 мМ и выше. Начало снижения длины корня обнаружено при концентрации NaCl, составлявшей 100 мМ. С повышением концентрации соли в питательной среде показано постепенное уменьшение сырой и сухой биомассы регенерированных корней. На полутонких продольных срезах корней показано изменение длины клеток колумеллы при содержании 50 и 150 мМ NaCl в питательной среде. У корней, образованных при концентрациях 50-100, 250 мМ NaCl увеличивалась длина корневого чехлика, а число слоёв в чехлике уменьшалось с повышением концентрации соли в питательной среде от 25 мМ и выше. Увеличение площади клеток коры наблюдалось только при концентрации NaCl 100 мМ, тогда как у клеток центрального цилиндра - при концентрациях от 75 до 200 мМ. Вакуолизация клеток показана при концентрациях, составляющих 25, 75, 150, 200 и 250 мМ NaCl у клеток коры, и при содержании 25, 100-250 мМ хлорида натрия у клеток корневого чехлика. Воздействие 25, 50 и 75 мМ NaCl приводило к появлению коротких пучков, а при 150, 200 и 250 мМ NaCl формировались пучки, неоднородные по плотности и наблюдалась дезорганизация цитоскелета. Для клеток коры и центрального цилиндра характерно уменьшение ядерно-ядрышкового соотношения площадей при 25 и 50 мМ NaCl. В результате исследования ультраструктуры клеток в контрольных условиях и при определённой ранее пороговой концентрации показано, что при действии соли происходило уплотнение стромы пластид и появление крахмальных включений. Ультраструктура ядер и ядрышек под действием стрессового фактора также отличалась от контрольных образцов: в клетках коры, при воздействии сублетальной концентрации обнаружены инвагинации оболочек ядра.

Таким образом, в ходе исследования обнаружены вызываемые NaCl изменения структуры корня томата сорта Рекордсмен, указывающие, в частности, на нарушение водного баланса.

Источники и литература

- 1) El-Banna Y., Attia, T. Root tip meristematic cell and leaf chloroplast structure in three barley (*H. vulgare* L.) genotypes exposed to salinity stress // *Cytologia*, 1999, № 64, P: 69-76.

Роль мелатонина в поддержании функциональной активности фотосистем I и II в листьях *Arabidopsis thaliana* при фотострессе**Научный руководитель – Кудрякова Наталия Васильевна****Бычков Иван Александрович**

Аспирант

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

E-mail: Ivan.a.b@mail.ru

Мелатонин является высокоактивным биорегулятором, роль которого у растений в настоящее время широко изучается. Мелатонин способен выполнять антиоксидантную функцию при воздействии различных биотических и абиотических стрессоров, а также выступать в качестве регулятора физиологических процессов. Целью данного исследования было изучение участия мелатонина в функционировании фотосистем в условиях умеренного светового стресса.

Для выполнения данной работы использовались срезанные листья четырехнедельных растений *Arabidopsis thaliana*, выращенных при освещенности $90 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ и продолжительности светового периода 16 ч. Листья помещали на воду и растворы мелатонина различной концентрации (10 мкМ, 100 мкМ, 1 мМ) и подвергали воздействию света повышенной интенсивности ($250 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$) в течение 72 ч. Исследовали содержание фотосинтетических пигментов, показатели переменной флуоресценции хлорофилла и накопление транскриптов для ряда ядерных и пластидных фотосинтетических генов.

Показано, что мелатонин способствует лучшему сохранению хлорофиллов по сравнению с контролем. Механизм может быть связан с замедлением их деградации, на что указывает подавление активности одного из генов ключевого фермента распада хлорофилла - феофорбид *a*-оксигеназы. Также мелатонин увеличивал уровень транскриптов гена *ELIP2*, продукт которого участвует в прямой защите хлорофилла при фотострессе.

Мелатонин в концентрациях 10 мкМ и 100 мкМ уменьшал повреждение реакционных центров фотосистемы II. Это выражалось в увеличении показателя Fv/Fm, квантового выхода системы на свету Y(II) и коэффициента фотохимического тушения qP. В концентрации 1 мМ мелатонин не оказывал такого воздействия, зато сильно повышал уровень нефотохимического тушения. Эти данные согласуются с увеличением экспрессии гена *PsbS*, кодирующего белок, который участвует в процессе рассеивания энергии. Мелатонин также незначительно активировал гены хлоропластного кодирования *psbA* и *psbD*, что указывает на его возможное участие в поддержании пула структурных белков ФСII.

Сходная картина наблюдалась для ФСI. При использовании концентрации мелатонина 10 мкМ квантовый выход был выше по сравнению с контролем. Это сопровождалось уменьшением нефотохимического тушения за счет снижения диссипации энергии, возникающей из-за ограничений со стороны акцептора Y(NA). Однако влияние мелатонина на активность этой фотосистемы было выражено в меньшей степени, а также мелатонин не оказывал достоверно значимого воздействия на активность экспрессии генов структурных белков *psaA* и *psaB* пластидного кодирования, что вероятно связано с большей изначальной устойчивостью ФСI.

Таким образом, экзогенный мелатонин способствовал поддержанию функциональной активности фотосистем I и II в листьях *Arabidopsis* в условиях фотоокислительного стресса.

Особенности морфогенеза и реакции на температурный стресс трансформированных линий табака в культуре *in vitro*

Научный руководитель – Лукаткин Александр Степанович

Ведяшкина О.А.¹, Лукишина Т.А.²

1 - Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва, Факультет биотехнологии и биологии, Саранск, Россия, *E-mail: lelyavedyasshkina@mail.ru*; 2 - Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва, Факультет биотехнологии и биологии, Саранск, Россия, *E-mail: lukschina.tania@yandex.ru*

Трансформированные линии растений представляют удобный объект для изучения реакции на стрессовые воздействия. Изменение экспрессии гена или введение извне чужеродных генов позволяет детально выяснить особенности метаболизма, обусловленные этими генами, в условиях неблагоприятных внешних воздействий. Для оценки влияния абиотических факторов необходимо детальное понимание морфологических, физиологических и биохимических особенностей трансформированных линий, в отличие от исходной линии (wild type, Wt).

Проведено сравнительное изучение морфогенеза Wt-линии табака (*Nicotiana tabacum* L., сорт Самсун) и трансформированных линий 6214 (экспрессирующей пластин-GFP; семена получены из Малопольского центра биотехнологии, Краков, Польша), 29 и 3 (сверхэкспрессирующих Fe-SOD; получены из ВНИИ сельскохозяйственной биотехнологии), культивируемых *in vitro*. Клонально размножаемые растения высаживали на среды Мурасиге-Скуга и культивировали при температуре 20-24°C и 16-часовом фотопериоде до 4 недель, еженедельно учитывая длину побега, корней, количество листьев и узлов. Регенеранты подвергали 18-часовому воздействию повышенных (40 °C) или пониженных (5 °C) температур (контроль выдерживали при 23°C), сразу после этого в листьях определяли состояние клеточных мембран по выходу электролитов (на кондуктометре ОК-102, Radilkis, Венгрия), интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ) по накоплению ТБК-реагирующих соединений (на спектрофотометре UVmini1240, Shimadzu, Japan), а также параметры флуоресценции хлорофилла (ФХ) (на флуориметре Junior PAM, Walz, Germany).

Анализ морфометрических данных показал, что растения-регенеранты, выращенные из разных частей растений (апикальной, средней и базальной), проявляли существенные различия по скорости роста побега, более интенсивный рост наблюдался у регенерантов из апикальной зоны. Самый слабый органогенез и рост выявлен у растений из базальных участков побега. Сравнение морфогенеза у Wt и трансформированных линий показало, что побегообразование и ризогенез лучше протекали у Wt-линии табака; существенной разницы по количеству листьев и узлов между Wt и трансформантами не наблюдалось. Все трансформированные линии проявляли сходную динамику изменений ростовых параметров и органогенеза при культивировании *in vitro*. Поскольку габитус и морфогенез трансформантов значительно не отличался от Wt-растений, их можно использовать при оценке устойчивости.

Выявлено, что при действии температур (пониженных и повышенных) на растения табака существенно изменялись мембранные параметры (выход электролитов из высечек листьев и интенсивность ПОЛ) и параметры ФХ, указывающие на состояние фотосинтетического аппарата, более значительно - после воздействия высокой температуры. Сравнение регенерантов разных линий табака выявило различия в индексах повреждения при неблагоприятных температурах, при этом самыми чувствительными к температурным воздействиям оказались Wt-растения, а самыми устойчивыми - трансформанты по гену Fe-SOD.

Вклад представителя семейства универсальных стрессовых белков в регуляцию прорастания семян у *Arabidopsis thaliana*

Научный руководитель – Пожидаева Елена Станиславовна

Горшкова Дарья Сергеевна

Аспирант

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра физиологии растений, Москва, Россия

E-mail: stanisa-2002@yandex.ru

Универсальные стрессовые белки (Universal Stress Proteins, USP) впервые были найдены у бактерий в условиях абиотического стресса и аннотированы как аденин-нуклеотид альфа-гидролазы. USP-белки способны к связыванию и/или гидролизу адениловых нуклеотидов, а также к участию в белок-белковых взаимодействиях и каскадах фосфорилирования. Всё это указывает на возможную регуляторную функцию белков USP.

Нами начато исследование гомолога адениновой альфа-гидролазы, кодируемого геном *At3g58450* у *Arabidopsis thaliana* (*Arabidopsis*). По данным базы TAIR этот ген кодирует USP-подобный белок, однако в работе [2] белок AT3G58450 не был отнесён к семейству USP в связи с отсутствием характерных элементов вторичной структуры. Тем не менее, проведенный нами филогенетический анализ аминокислотных последовательностей белка AT3G58450 и других представителей семейства USP показал, что исследуемый белок относится к кластеру, образованному другими USP-подобными белками *Arabidopsis*. Кроме того, наличие у AT3G58450 всех консервативных аминокислотных остатков, необходимых для формирования структуры нуклеотид-связывающего USP-домена, также позволяет рассматривать данный белок как член семейства USP у *Arabidopsis*.

В ходе исследования установлено, что трансгенные растения *115c08* со сниженной экспрессией *At3g58450* характеризуются отставанием в прорастании и измененной морфологией семян по сравнению с контрольными растениями Col-0 *Arabidopsis* [1]. Эти результаты коррелируют с максимальным накоплением транскриптов *At3g58450* в сухих семенах с последующим снижением при набухании. У растений *115c08* также изменена физиологическая реакция на фитогормоны - абсцизовую кислоту (АБК) и гиббереллины (ГК). Прорастание семян *115c08* значительно тормозится по сравнению с Col-0 в присутствии АБК или паклобутразола, ингибитора синтеза ГК. Однако в присутствии ГК указанная разница исчезает. Наблюдаемые у линии *115c08* изменения соответствуют изменениям в метаболизме фитогормонов, о чем свидетельствует снижение экспрессии генов синтеза ГК при прорастании, сопряженное с увеличенным содержанием транскриптов ферментов их деградации. Более того, у растений *115c08* обнаружено измененное содержание транскрипционных факторов, участвующих в ответе на сигнал АБК и ГК.

Таким образом, полученные результаты позволяют предположить, что белок AT3G58450, являющийся гомологом USP-подобных белков *Arabidopsis*, вносит вклад в регуляцию прорастания семян через влияние на баланс ГК и АБК.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-04-00043.

Источники и литература

- 1) Горшкова Д.С., Гетман И.А., Воронков А.С., Чижова С.И., Кузнецов Вл.В., Пожидаева Е.С. Ген универсального стрессового белка AtUSP регулируется фитогормонами и вовлекается в прорастание семян *Arabidopsis thaliana* // Доклады Академии Наук, 2018. Т. 479. №5. С. 578-581.

- 2) Kerk D., Bulgrien J., Smith D.W., Gribskov M. Arabidopsis Proteins Containing Similarity to the Universal Stress Protein Domain of Bacteria // Plant Physiol. 2003. V. 131. P. 1209-1219

Транскрипционная активность хлоропластных генов у хлорофилл-дефицитных мутантов подсолнечника

Научный руководитель – Усатов Александр Вячеславович

Губайдуллина А.М.¹, Макаренко М.С.²

1 - Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Дмитрия Иосифовича Ивановского, Кафедра генетики, Ростов-на-Дону, Россия, E-mail: *gubaydullina.s@mail.ru*; 2 - Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Дмитрия Иосифовича Ивановского, Кафедра генетики, Ростов-на-Дону, Россия, E-mail: *mcmakarenko@yandex.ru*

Хлорофилл-дефицитные мутанты различной генетической природы широко используются для изучения механизмов, регулирующих синтез пигментных и белковых компонентов фотосинтетического аппарата. При этом мутанты с внеядерным типом наследования априори не несут повреждений в генах биосинтеза хлорофилла и могут влиять на синтез пигментов только посредством ретроградной сигнализации. Поэтому исследования хлорофилл-дефицитных мутантов с внеядерным типом наследования представляют особый интерес для исследований как в области генетики фотосинтеза, так и в области ядерно-цитоплазматических взаимодействий. Целью данного исследования является определение относительного уровня экспрессии хлоропластных генов у хлорофилл-дефицитных мутантов подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) с внеядерным типом наследования.

Объектами нашего исследования служили растения подсолнечника (*Helianthus annuus*): исходной инбредной линии 3629 и трех линий (*en-chlorina 1, 6, 7*) внеядерных мутантов с желто-зеленой окраской листьев (тип *chlorina*), полученных из исходной линии с помощью индуцированного мутагенеза. Экспрессию хлоропластных генов *psaA*, *psaB*, *psbA*, *psbB*, *rbcL*, *rpl36*, *rpoB*, *ycf2* определяли с помощью метода ОТ-ПЦР в режиме реального времени. В качестве референсных генов при анализе уровня относительной ($\Delta \Delta C_t$ метод) экспрессии использовали *rpl36*, *rpoB*.

Уровень относительной экспрессии генов *psbA*, *psbB*, *rbcL* у всех исследуемых мутантных линий незначительно отличался по сравнению с контрольными значениями (линия 3629). Сравнительный анализ экспрессии генов *psaA*, *psaB* не показал различий между контролем и линией *en-chlorina 7*. Напротив, у линий *en-chlorina 1, 6* экспрессия гена *psaA*, по сравнению с контролем, достоверно увеличилась: в 4 и 2,3 раза, соответственно, а экспрессия гена *psaB* - в 4,9 раз (*en-chlorina 1*) и в 2,6 раз (*en-chlorina 6*). В случае экспрессии гена *ycf2* не отмечено достоверного различия между контролем и линией *en-chlorina 1*. А в растениях линий *en-chlorina 6, 7* мы обнаружили сниженное содержание мРНК гена *ycf2* в 3,7 и 6,1 раз, соответственно. Интересно отметить, что полученные в настоящей работе данные транскрипционной активности генов согласуются с полученными нами ранее данными о локализации мутаций в хлоропластных генах исследуемых мутантных линий.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №18-34-00659.

Морфофизиологические показатели растений при действии нефтезагрязнённой почвы Талинского месторождения ХМАО

Научный руководитель – Петухова Галина Александровна

Джабраилова Д.Р.¹, Красикова А.С.²

1 - Тюменский государственный университет, Институт биологии, Тюмень, Россия, *E-mail: vbc.hf22@yandex.ru*; 2 - Тюменский государственный университет, Институт биологии, Тюмень, Россия, *E-mail: a.s.krasikova@utmn.ru*

Тюменская область является крупнейшим поставщиком углеводородного сырья в России. Одной из серьезных экологических проблем является загрязнение окружающей среды нефтью и нефтепродуктами, так как такие важные элементы биосферы как растительный и почвенный покров - подвергаются деструктивному действию [1].

Несмотря на многочисленные исследования по оценке влияния нефтяного загрязнения на растения, биохимический ответ живых организмов, как первичная реакция на действие стресс-факторов, в этих условиях изучен недостаточно полно [2].

Целью исследования стало проведение анализа жизнедеятельности проростков овса посевного и кресс - салата в условиях нефтяного загрязнения среды в невысоких концентрациях (2% и 4%).

В качестве объектов исследования для оценки влияния нефтезагрязнения были выбраны овёс посевной и кресс-салат. На территории разлива Талинского месторождения Октябрьского района Ханты-Мансийского округа были получены пробы почвы. Полученные пробы из лаборатории экомониторинга ЗАО «РОСТАМЭКОЛОГИЯ» были уже размешаны с песком и в них было определено содержание нефтепродуктов.

В рамках исследования были использованы различные методики по определению концентрации пигментов фотосинтеза в листьях, содержанию оснований Шиффа, а также были использованы методы математического моделирования и методика спектрометрического определения содержания диеновых конъюгатов [3, 4].

При изучении действия нефтяного загрязнения на рост овса посевного и кресс-салата, было показано, что нефть приводит к увеличению всхожести семян, увеличивает морфометрические показатели овса посевного.

Нефтяное загрязнение среды приводит к появлению в клетках овса посевного и кресс-салата продуктов перекисного окисления липидов. При этом происходит повышение содержания пигментов фотосинтеза. При сравнении вариантов эксперимента стало понятно, что овес посевной менее чувствителен к действию нефти, чем кресс-салат.

Таким образом, нефтяное загрязнение среды приводит к изменению всхожести семян растений.

Источники и литература

- 1) Абросимов, А.А. Экология переработки углеводородных систем / А.А. Абросимов. – М.: Химия, 2002. – 608 с.
- 2) Петухова, Г.А. Влияние нефтяного загрязнения среды на растения и животных / Г.А. Петухова, В.В. Дмитриева, В.В. Дузева, А.А. Читаева // Теоретические и прикладные аспекты современной науки. – 2014. – № 6-1. – С. 114-117.
- 3) Лакин, Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин. – М.: Высшая школа, 1990. – 293 с.
- 4) Шульгин, И.А. Расчет содержания пигментов с помощью номограмм / И.А. Шульгин, А.А. Ничипорович // Хлорофилл. – 1974. – С. 127-136.

Эффективность предпосевной обработки семян кукурузы стимуляторами роста для повышения ее продуктивности в условиях Ростовской области

Научный руководитель – Усатов Александр Вячеславович

Дуплий Надежда Геннадьевна

Аспирант

Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Дмитрия Иосифовича Ивановского, Кафедра генетики, Ростов-на-Дону, Россия

E-mail: duplii@rambler.ru

Кукуруза - востребованная сельскохозяйственной культура Ростовской области (6,4 % от общероссийских сборов). В условиях юга России кукуруза часто испытывает дефицит влаги, поскольку атмосферные осадки летом чаще всего кратковременные и носят ливневый характер, что приводит к существенному снижению ее урожайности.

Целью исследования является сравнительный анализ эффективности стимуляторов роста на продуктивность кукурузы в климатических условиях Ростовской области.

В качестве стимуляторов были выбраны следующие вещества: SkQ3(10-(6'-метилпластохинонил) децилтрифенилфосфоний), который продемонстрировал увеличение скорости роста растений кукурузы в условиях недостаточного увлажнения [1], янтарная кислота (ЯК) и парааминобензойная кислота (ПАБК).

Объектом служил двойной гибрид кукурузы Зерноградский 354 МВ. Обработку семян осуществляли непосредственно перед посевом, в протравливателе семян ПС-10 по следующей схеме: 1) контроль (вода); 2) SkQ3 в концентрации 2,5 нМ; 3) SkQ3 в концентрации 2,5 нМ + ПАБК (0,005 %) + ЯК (0,02 %); 4) ПАБК (0,005 %) и ЯК (0,02 %). Посев кукурузы проводили в оптимальные агротехнические сроки согласно стандартной технологии. Учётная площадь делянки составила 84 м². Результаты полевого опыта представлены на рисунке 1.

Полевые испытания показали, что предпосевная обработка семян SKQ3, а также ПАБК и ЯК увеличивала только высоту растений, тогда как совместная обработка SKQ3 с ПАБК и ЯК показала как наибольший прирост растений (на 17%), так и увеличение продуктивности кукурузы, выраженное в количестве початков на 100 растений (на 10%).

Таким образом, предпосевная обработка семян кукурузы SkQ3 совместно с парааминобензойной и янтарной кислотами в полевых опытах повысила продуктивность кукурузы. Целесообразно дальнейшее применение этих веществ в полевых условиях. Работа выполнена на базе ЦКП Биотехнология, биомедицина и экологический мониторинг ЮФУ.

Источники и литература

- 1) Дуплий Н. Г., Азаров А. С., Усатов А. В. Влияние SKQ3 (10-(6'-метилпластохинонил) децилтрифенилфосфония) на устойчивость кукурузы к почвенной засухе // Проблемы социально-экономической географии и природопользования. Сборник трудов Всероссийской научной конференции, Ростов-на-Дону, 1 декабря, - 2017, - С. 169-171.

Иллюстрации

Таблица 1 – Влияние обработки семян на физиологические признаки кукурузы

Вариант	Полевая всхожесть %	Высота растений, см	Сохранность к уборке, %	Число початков, шт./100 растений
Контроль	82,0±3,5	185,7±10,5	89,7±2,7	77,3±3,4
SKQ3	86,0±4,7	217,9±15,6*	91,7±3,8	81,2±2,1
SKQ3 + ПАБК+ЯК	89,2±2,6	223,6±12,9*	95,8±3,2	85,7±2,5*
ПАБК+ЯК	84,9±3,8	220,5±17,4*	93,8±3,6	80,2±3,2

*достоверные отличия по сравнению с контролем при $p < 0,05$

Рис. 1. Рис. 1. Влияние обработки семян на физиологические признаки кукурузы

**Динамика ионного гомеостаза и редокс-статуса на ранних этапах прорастания
пыльцевых зёрен ели голубой**

Научный руководитель – Брейгина Мария Александровна

Евменьева Анастасия Анатольевна

Студент (магистр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический
факультет, Кафедра физиологии растений, Москва, Россия

E-mail: evmenievaanastasia@gmail.com

Полярный рост - особый тип клеточного роста, характерный для такого модельного объекта как пыльцевые трубки семенных растений. Пыльца хвойных отличается от пыльцы цветковых растений иным направлением движения органелл, пологим кальциевым градиентом, низкой скоростью роста и другими особенностями. Механизмы регуляции прорастания пыльцы хвойных практически не изучены. В нашей работе внимание было сосредоточено на роли регуляторного модуля «АФК - ионный транспорт» в контроле ранних этапов прорастания пыльцевых зёрен ели.

Первый этап работы был посвящен изучению вклада эндогенных АФК в активацию и прорастание пыльцевых зёрен ели. С помощью спектрофлуориметрии был обнаружен выход АФК из пыльцевых зёрен в среду прорастания, причем значительная их часть продуцируется с участием плазмалеммой НАДФН-оксидазы. Ингибиторный и антиоксидантный анализ показал, что для эффективного прорастания пыльцевых зёрен наибольшее значение имеют эндогенные $O_2^{\bullet-}$ и H_2O_2 , а также НАДФН-оксидаза.

Также изучали динамику ключевых показателей ионного гомеостаза: мембранного потенциала и цитоплазматического рН в вегетативной клетке пыльцевого зерна. В течение первых двух часов инкубации пыльцевые зёрна находятся в покое: сохраняется низкий уровень МП (деполяризованные зерна) и внутриклеточного рН (кислый цитозоль). В течение инкубации наблюдается гиперполяризация плазмалеммы вегетативной клетки. Самый большой сдвиг в сторону отрицательных значений происходит между 9 и 14 ч, когда начинается рост пыльцевых трубок. Динамика внутриклеточного рН отчасти повторяет динамику МП: на стадии инициалей обнаруживается резкий скачок рН.

Добавление 100 мкМ H_2O_2 в среду инкубации пыльцевых зёрен не изменяет их мембранный потенциал и рН на ранней и более поздней стадиях прорастания. Это позволяет предполагать, что экзогенные АФК, в том числе перекись водорода, не участвуют в регуляции ранних этапов прорастания у ели (в отличие от цветковых растений).

Мы можем заключить, что динамика показателей мембранного потенциала и рН у пыльцы ели на ранних этапах прорастания, изученная в данной работе впервые, имеет важные особенности по сравнению с цветковыми растениями, а редокс-регуляция в этот период основана на производстве эндогенных АФК, т.е. само пыльцевое зерно создает для себя благоприятную редокс-среду, не полагаясь на влияния извне.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проекты 18-34-00979 и 19-04-00282).

Феномен биполярного прорастания пыльцевых зёрен (на примере *Picea pungens*)

Научный руководитель – Брейгина Мария Александровна

Капацинская Анна Аркадьевна

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра физиологии растений, Москва, Россия

E-mail: kapatsinskayaa@gmail.com

Рост пыльцевой трубки - консервативный механизм, обеспечивающий доставку мужских гамет к месту оплодотворения у семенных растений. У голосеменных был обнаружен оригинальный паттерн прорастания - *биполярное прорастание*, которое в оптимальных условиях *in vitro* наблюдается почти у половины зёрен. Причины, механизмы и функциональное значение этого явления до сих пор не изучены, что делает его исследование актуальным для понимания особенностей полярного роста у голосеменных растений. Целью данной работы было цитологическое исследование пыльцевых зёрен ели с двойным прорастанием и их трубок на локализацию органелл и компонентов клеточной стенки, изучение возможной причины появления двойного прорастания и его динамики *in vitro*. Объект - пыльца *Picea pungens*, собранная с мужских шишек. Сухая пыльца хранилась при -20°C, эффективность прорастания проверяли каждый сезон. Непосредственно перед прорастанием пыльцу инкубировали во влажной камере 1 час при 25°C. После увлажнения пробы культивировались 14 часов на качалке при 25°C в среде прорастания, оптимизированной для ели. Используемые методы анализа: флуоресцентное окрашивание; световая микроскопия, сканирующая электронная микроскопия.

Полученные результаты показывают, что непроросшие пыльцевые зерна ели окружены сплошной экзиной, на которой можно выделить несколько зон. Исследование пыльцевых зерен в динамике показало, что через 2 часа и далее экзина сплошная, после 6 часов появляются единичные разрывы, а после 9 часов в экзине имеются 1 или 2 крупных разрыва, через которые начинают появляться инициалы пыльцевых трубок, что хорошо визуализируется с помощью флуоресцентной микроскопии и сканирующей электронной микроскопии. Паттерн разрывов экзины, как оказалось, и является главным фактором-переключателем между униполярным и биполярным прорастанием. Активировать переключение можно, воздействуя на механические свойства оболочки. Оказалось, что при обработке смесью для образования гидроксид-радикала (в момент образования разрывов) одинарных крупных разрывов стало больше (это связано с набуханием интины) и процент биполярного прорастания существенно снизился. При изучении вопроса о функциональном значении «второго» выроста было выяснено, что обе структуры - полярно растущие трубки, имеющие соответствующую организацию цитоплазмы и стенки. Однако имеются морфологические отличия: в более длинной трубке процессы идут активнее, в ней преимущественно расположена цитоплазма с органеллами, вторая трубка, более короткая, является более вакуолизированной.

Таким образом, обнаруженное биполярное прорастание - свойство ели и, судя по литературе, других хвойных, проявляющееся благодаря особенностям механических свойств клеточной оболочки. Пока что феномен обнаружен только *in vitro*, вопрос о его присутствии при прорастании пыльцы в женских шишках может стать темой для дальнейших исследований.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект 19-04-00282).

Регуляция светом экспрессии генов белков, ассоциированных с пластидной РНК-полимеразой, в ходе цитокинин-зависимой деэтиоляции *Arabidopsis thaliana*

Научный руководитель – Кузнецов Виктор Васильевич

Кизилова Анастасия Дмитриевна

Студент (бакалавр)

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

E-mail: origami0147@mail.ru

Ключевым событием процесса деэтиоляции является превращение этиопласта в зеленый хлоропласт, что сопровождается усложнением транскрипционного аппарата, прежде всего комплекса PEP (plastid-encoded polymerase), с которым на свету связываются белки PAP (PEP-associated protein) и обеспечивают транскрипцию генов фотосинтеза [2]. Реализация сигнального пути криптохромов также приводит к процессу деэтиоляции через CRY1 и CRY2, осуществляя освобождение позитивного регулятора фотоморфогенеза HY5, связанного с COP1 в темноте [3].

Известно, что гены *PAP* активируются светом [1], однако какие компоненты сигналинга света вносят больший вклад в их регуляцию остается не ясным. Цитокинин способен ускорять свето-индуцированный процесс деэтиоляции. Однако особенности регуляции цитокинином уровня мРНК генов *PAP* при деэтиоляции также остаются неизученными. В связи с этим целью данной работы является исследование регуляции криптохромами экспрессии генов семейства *PAP* в ходе цитокинин-зависимой деэтиоляции растений *Arabidopsis thaliana*.

Объектом были выбраны растения дикого типа *A. thaliana* экотипа Landsberg erecta (*Ler*) и созданные на его основе инсерционные нокаут - мутанты по генам криптохромов 1 и 2 (*CRY1* и *CRY2*) и гену *транс*-фактора HY5 (*HY5*).

В ходе научного исследования было показано, что компоненты сигналинга синего света вносят значительный вклад в активацию белым светом экспрессии генов хлоропластов. Уровень транскриптов всех генов *PAP* повышается при действии света и имеет транзитный профиль экспрессии. Однако они различались между собой по степени активации светом и временной точке своего максимума. Наиболее выраженную регуляцию светом выявили гены *PAP3*, *9* на 9 часах экспозиции на свету и *PAP5*, *6* после шести часов освещения. Цитокинин стимулировал накопление матриц всех генов не только на свету, но и в темноте.

У проростков *cry1 cry2* в темноте и на свету в присутствии гормона не происходит повышения мРНК всех генов семейства *PAP* по сравнению с диким типом, что свидетельствует о важной роли сенсоров синего света в регуляции экспрессии генов аппарата транскрипции при цитокинин-зависимой деэтиоляции.

Установлено, что *транс*-фактор HY5 вовлечен в активацию экзогенным цитокинином экспрессии ядерных генов *PAP* пластидной РНК полимеразы. У мутантов по *hy5* в присутствии цитокинина не происходит роста матриц всех генов семейства *PAP*, но сохраняется слабая активация всех генов светом.

Источники и литература

- 1) Pfalz J., et al. pTAC2, -6, and -12 are components of the transcriptionally active plastid chromosome that are required for plastid gene expression // Plant Cell. 2006. V.18. P. 176–197.

- 2) Liebers, M., Pfannschmidt T. Plastid RNA polymerases and nuclear-encoded proteins associated with them in *A. thaliana*. // *Endocytobiosis and Cell Research*. 2017. V. 28. № 1 P. 20–32.
- 3) Liu B., Yang Z., Gomez A., Liu B., Lin C., Oka Y. Signaling mechanisms of plant cryptochromes in *Arabidopsis thaliana* // *J Plant Res*. 2016. V. 129. P. 137–148.

Влияние селена на активность антиоксидантной системы *Rubus idaeus* L. в условиях засухи и гипертермии

Научный руководитель – Князев Сергей Дмитриевич

Кривушина Диана Александровна

Выпускник (магистр)

Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, Факультет естественных наук, Орел, Россия

E-mail: krivushina@vniispk.ru

В литературе имеются обширные сведения о влиянии засухи и высокой температуры на физиологические процессы растений [1, 5], однако данных об изучении влияния этих факторов на *Rubus idaeus* L., имеющей большую листовую поверхность, испаряющую много воды, и неглубоко залегающую корневую систему, недостаточно. Данные литературы свидетельствуют о том, что микроэлемент селен, являясь антиоксидантом, регулирует работу ферментов антиоксидантной защиты организмов, находящихся в оптимальных условиях среды [3].

В качестве объектов исследований были взяты контрастные по засухоустойчивости сорта малины Ранняя заря и Соколенок. О влиянии селена на работу антиоксидантной системы после окончания действия гипертермии судили по количеству накопления в листьях пролина, определение которого проводилось с помощью нингидринового реактива [4]. Анализ продукта перекисного окисления липидов (ПОЛ) — малонового диальдегида (МДА) — оценивали по реакции взаимодействия с тиобарбитуровой кислотой [2]. Содержание активных форм кислорода устанавливали на примере определения количества перекиси водорода на основе качественной реакции с тетрахлористым титаном [6]. Анализы проводили в 5-кратной повторности. Достоверность результатов оценивали по стандартным методикам с использованием программ Excel.

В результате исследований выявлено, что в растениях, экзогенно обогащенных антиоксидантом селеном, на фоне действия гипертермии и засухи зафиксировано снижение МДА как у сорта Ранняя заря, так и у сорта Соколенок (на 22,2 и 11,6%, соответственно, против бесстрессовых контролей по селену). Под влиянием стрессоров уровень H_2O_2 в отличие от контроля увеличивался незначительно на 23,5% у сорта Ранняя заря и на 14,4% у сорта Соколенок. Под воздействием засухи и гипертермии селен позволил значительно увеличить уровень пролина (в среднем на 29,8% у сорта Ранняя заря и на 30,8% у сорта Соколенок против их бесстрессовых вариантов).

Проведенное исследование показало, что экзогенное обогащение растений *Rubus idaeus* антиоксидантом селеном оказывало протекторный эффект на развитие процессов липопероксидации, сохраняя структурно-функциональную целостность клеточных мембран при действии гипертермии и засухи.

Источники и литература

- 1) Прудников П. С. Влияние селена на физиолого-биохимические процессы при адаптации растений картофеля к гипотермии. Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Орел, 2007.

- 2) Стальная, И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / В кн.: В.Н. Ореховича (ред.) Современные методы в биохимии. М., Медицина. 1977. С. 66-68.
- 3) Якушкина Н.И. Энергетический обмен и рост растений // Особенности гормональной регуляции процессов обмена и темпов роста растений. МОПИ им. Н.К. Крупской. Москва. 2003.С. 3-11.
- 4) Bates L. S., Waldren R.P., Teare I.D. Rapid determination of free proline for water-stress studies // Plant and Soil, 1973. Vol. 39. P. 205-207.
- 5) Jackson, M. Are plants hormones involved in root to shoot communication? // Advanced in Botanical Research, Academic Press. 1993. V.19 P. 103-187.
- 6) Kumar G.N.M., Knowles N.R. Changes in lipid peroxidation and lipolytic and freeradical scavenging enzyme activities during aging and sprouting of potato (*Solanumtuberosum*) seedtubers // Plant. Physiol. 1993. Vol. 102. P. 115-124.

**Характеристика протеома литоральной водоросли *Fucus vesiculosus* L.
(Phaeophyceae) на разных фазах приливно-отливного цикла**

Научный руководитель – Тараховская Елена Роллановна

Лемешева В.С.¹, Царев А.А.², Кушнарёва А.В.³

1 - Санкт-Петербургский государственный университет, Биологический факультет, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: le_r_ka@inbox.ru*; 2 - Санкт-Петербургский государственный университет, Биологический факультет, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: alexandretsarev@gmail.com*; 3 - Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Москва, Россия, *E-mail: light6elf@gmail.com*

Литоральная зона морей является одним из самых сложных биотопов, обитатели которого регулярно сталкиваются с резкими изменениями условий окружающей среды (освещенность, влажность, температура и т.п.). Населяющие литораль организмы вынуждены постоянно корректировать свою функциональную активность и биохимический состав в соответствии с текущей фазой приливного цикла. В данной работе мы сравнили уровень экспрессии белков одного из видов-эдификаторов литорали северных морей, бурой водоросли *Fucus vesiculosus* L., на разных фазах приливного цикла.

Пробы растительного материала отбирали на четырех фазах приливного цикла - малая вода, середина прилива, большая вода и середина отлива. Анализ проводили с применением «bottom up» протеомной стратегии [3]. Тотальный белок выделяли методом фенольной экстракции, пробоподготовка и хромато-масс-спектрометрический анализ осуществлялись по Paudel с соавт. (2016) [2].

Всего в протеоме *F. vesiculosus* было аннотировано 746 белков. Большая часть функционально аннотированных белков задействована в метаболизме белка (138 белковых групп), реакциях фотосинтеза (57) и окислительного фосфорилирования (40). Белки, уровень экспрессии которых достоверно изменялся в зависимости от фазы приливного цикла, преимущественно ассоциированы с процессами фотосинтеза (компоненты Фотосистем, ферменты цикла Кальвина), клеточного дыхания (ферменты гликолитического пути и электрон-транспортной цепи митохондрий) и метаболизма липидов. Известно, что литоральные фукусковые водоросли способны поддерживать функциональную активность (в т.ч., эффективно фотосинтезировать) как в водной, так и в воздушной среде, быстро адаптируясь к изменению условий [1]. Таким образом, представляется логичным, что при смене фаз прилива изменения, в первую очередь, затрагивают экспрессию белков, обеспечивающих процессы, связанные с газообменом (фотосинтез, дыхание).

Проект выполняется при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 17-04-01331).

Источники и литература

- 1) Flores-Molina M.R., Thomas D., Lovazzano C., Núñez A., Zapata J., Kumar M., Correa J.A., Contreras-Porcía L. Desiccation stress in intertidal seaweeds: Effects on morphology, antioxidant responses and photosynthetic performance // *Aquatic Botany*, 2014. 113:90
- 2) Paudel G., Bilova T., Schmidt R., Greifenhagen U., Berger R., Tarakhovskaya E., Stöckhardt S., Balcke G.U., Humbeck K., Brandt W., Sinz A., Vogt T., Birkemeyer C., Wessjohann L., Frolov A. Changes in *Arabidopsis thaliana* advanced glycosylated proteome induced by the polyethylene glycol-related osmotic stress // *J. Exp. Bot.* 2016. 67:6283-6295.

- 3) Zhang Y., Fonslow B.R., Shan B., Baek M.C., Yates J.R. Protein analysis by shotgun/bottom-up proteomics // Chem Rev. 2013. 113:2343–2394.

Рецептор АНК3 опосредует негативное влияние цитокининов на устойчивость листьев *Arabidopsis thaliana* к световому стрессу**Научный руководитель – Данилова Мария Николаевна****Медведева Анастасия Сергеевна***Студент (магистр)*

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра физиологии растений, Москва, Россия

E-mail: medvedeva.plantphys@gmail.com

Цитокинины хорошо известны своими благоприятными эффектами на состояние листа, такими как стимуляция развития хлоропластов и клеточных делений, задержка старения. Несмотря на доказанное положительное воздействие цитокининов на жизнедеятельность листьев в оптимальных условиях, влияние цитокининов на растение в условиях стресса все еще недостаточно изучено: согласно ряду данных цитокинины способствуют сохранению более высоких физиологических показателей при стрессе, однако существуют и свидетельства о том, что стимуляция цитокининами ростовых эффектов снижает устойчивость растений к стрессовым воздействиям [1]. В модельном растении *Arabidopsis thaliana* цитокинины воспринимаются тремя сенсорными гистидинкиназами - АНК2, АНК3 и АНК4, что посредством активации сигнальных путей приводит к изменению экспрессии генома. Функции рецепторов АНК перекрываются, что не позволяет говорить о четком разделении их ролей, однако влияние мутаций в генах рецепторов цитокининов не равнозначно, и поэтому выяснение вклада каждого из рецепторов в цитокинин-регулируемые процессы представляет из себя интересную исследовательскую задачу.

В данной работе нами показано, что обработка цитокинином (5×10^{-6} М *транс*-зеатин, *tZ*) отделенных листьев 3-х недельных растений *Arabidopsis thaliana* изменяет их ответ на мягкий световой стресс ($180 \mu\text{E м}^{-2}\text{с}^{-1}$, 3 суток) по сравнению с листьями, инкубированными на воде (контроль). В растениях дикого типа обработка *tZ* задерживала накопление антоцианов и мРНК гена их синтеза *ANS*, что в сочетании со снижением максимального фотохимического квантового выхода ФС II (Fv/Fm), повышением экспрессии генов *psbD* и *LHCB2.4* и изменениями в содержании хлорофилла позволило нам предположить, что накопление антоцианов оказывает протекторное воздействие на фотосинтетический аппарат. Кроме того, обработка *tZ* снижала содержание пролина (согласовывалось со снижением экспрессии гена синтеза пролина *P5CS1* и повышением транскрипции гена пролиноксидазы *ERD5*), снижающееся в известных системах в процессе старения, и усиливала экспрессию генов альтернативной оксидазы (*Aox1a*) и Cu/Zn-супероксиддисмутазы (*CSD2*), маркеров окислительного стресса. Принимая во внимание снижение сухой массы листьев, обработанных *tZ*, по сравнению с контрольными, можно сказать, что *tZ* ингибирует накопление антоцианов, оказывающих протекторное действие, что приводит к окислительному повреждению и преждевременному старению. Важно отметить, что *tZ* слабо действует на растения с инактивированным рецептором АНК3 (*ahk2/3*, *ahk3/4*), в то время как растения с активным рецептором АНК3 (*ahk2/4*) демонстрировали схожую с диким типом реакцию. Полученные данные свидетельствуют о негативном влиянии цитокининов на устойчивость листа к световому стрессу, опосредованном преимущественно через рецептор АНК3.

Источники и литература

- 1) Veselov, D.S., Kudoyarova, G.R., Kudryakova, N.V., Kusnetsov, V.V. Role of Cytokinins in Stress Resistance of Plants// *Fiziologiya Rastanii*, 2017, 64(1), 19–32.

Определение количества ядерной, пластидной и митохондриальной ДНК в вегетативных органах подсолнечника (*Helianthus annuus* L.)

Научный руководитель – Усатов Александр Вячеславович

Митюков Владислав Дмитриевич

Студент (бакалавр)

Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Дмитрия Иосифовича Ивановского, Ростов-на-Дону, Россия

E-mail: vladost.mc18@gmail.com

Копийность ядерной ДНК в растительной клетке соответствует ploидности генома, в то время как копииность пластидной и митохондриальной ДНК зависит от ряда факторов: типа и возраста ткани, стадий роста растения и условий среды [1]. Точные исследования копииности ДНК органелл у цветковых растений немногочисленны и проведены только на картофеле, кукурузе и ряде других культур [1, 2]. Подобные работы отсутствуют в случае подсолнечника. Целью данной работы было определение количественного соотношения ядерной, пластидной и митохондриальной ДНК в различных вегетативных органах подсолнечника.

Объектом исследования служили 22 дневные растения подсолнечника *Helianthus annuus* L. инбредной линии 3629. ДНК выделяли из первой, третьей пары листьев и корня.

Методом ПЦР в режиме реального времени с использованием специфичных праймеров к однокопийным генам мы установили количественные соотношения ядерной (яДНК), пластидной (плДНК) и митохондриальной (мтДНК) ДНК.

Результаты показали, что в корнях на одну молекулу яДНК приходится примерно 300 молекул плДНК, в первой паре листьев данное соотношение составляет приблизительно 1:2000, в третьей паре - 1:1300. Интересно отметить, что в первой паре листьев относительное число молекул плДНК выше, чем в третьей. Вероятнее всего это связано с тем, что листья были на разных стадиях зрелости: третья пара листьев была молодой, в то время как первая - была уже полностью сформирована.

Напротив, наибольшая копииность мтДНК была отмечена в клетках корня, а именно: на одну молекулу яДНК приходится 90 молекул мтДНК. В первой и третьей парах листьев соотношение яДНК к мтДНК было почти равным и составило 1:40. То есть в корнях растений подсолнечника относительное число молекул мтДНК в 2,2 раза выше, чем в листьях.

Таким образом копииность пластидной ДНК в полностью сформированном листе выше, чем в молодом в 1,5 раза и выше, чем в корне в 6,7 раз, а копииность митохондриальной ДНК в корне выше, чем в листе в 2,2 раза. Различия в относительном числе молекул мтДНК в листьях, находящихся на разных стадиях развития, статистически не значимы. В дальнейшем планируется провести исследование копииности ядерной, пластидной и митохондриальной ДНК при различных условиях освещенности растений.

Источники и литература

- 1) Kumar R. A., Oldenburg D. J., Bendich A. J. Changes in DNA damage, molecular integrity, and copy number for plastid DNA and mitochondrial DNA during maize development // Journal of experimental botany. 2014. Vol. 65. №. 22. P. 6425-6439.
- 2) Ma J., Li X. Q. Organellar genome copy number variation and integrity during moderate maturation of roots and leaves of maize seedlings // Current genetics. 2015. Vol. 61. №. 4. P. 591-600.

Действие нитрата на ключевые ферменты диссимиляции сахарозы как новый механизм регуляции морфогенеза растений

Научный руководитель – Измайлов Станислав Федорович

Никитин Андрей Валентинович

Сотрудник

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

E-mail: tissla25@mail.ru

Нитрат в растениях выполняет важную сигнальную роль, регулируя экспрессию тысяч генов и в итоге широкий круг реакций азотного и углеродного метаболизма. Уже в концентрациях 0,5 и 1,0 мМ указанный ион вызывал двухкратный прирост активности ключевых ферментов диссимиляции сахарозы, сахарозосинтазы (СС) и вакуолярной инвертазы (ВИ) в зародышевых осях и корнях с гипокотилиями гороха посевного *Pisum sativum* L. в первые 2 суток от начала набухания семян. В итоге нитрат в сигнальной (1 мМ) концентрации стимулировал рост зародышевых осей, в 1,2-1,3 раза увеличивая их длину и массу. Необходимую для этого наработку структурных компонентов апопласта обеспечивала субстратом СС, а ВИ поддерживала осмотический рост клеток растяжением [1, 2].

В период 2-20 суток роста активность СС в корневой системе была преимущественно локализована в растущих апикальных ее частях. Сохранялась ее нитратзависимая прибавка в 1,5-2,0 раза. Увеличение активности ВИ при действии нитрата в субстратных концентрациях (10 и 14 мМ) было минимальным на 2 сутки и не проявлялось уже в период 6-14 суток роста. Это свидетельствует в пользу приоритета СС как мишени нитрата, функционально связанной с наработкой фитомассы. Такая особенность определяется тем, что указанный фермент является главным источником УДФ-глюкозы, субстрата для широкого круга биосинтезов. Уровень экспрессии кодирующих СС генов коррелирует с ростом листьев, плодов и семян [3]. Следовательно, можно предположить, что ее регуляция нитратом создает субстратную основу для интенсивного формирования не только корней, но и других вегетативных и генеративных органов.

Таким образом, СС как мишень позитивного действия нитрата является универсальным маркером итоговой стимуляции роста растений, что может быть основой создания инновационных агробиотехнологических подходов, связанных с минимизацией доз азота.

Источники и литература

- 1) Doblin M.S., Kurek I., Jacob-Wilk D., Delmer D.P. Cellulose biosynthesis in plants: from genes to rosettes // *Plant Cell Physiol.* 2002. No 12. P. 1407-1420.
- 2) Ruan Y.-L., Jin Y., Yang Y.-J., Li G.-J., Boyer J.S. Sugar input, metabolism, and signaling mediated by invertase. Roles in development, yield potential, and response to drought and heat // *Mol. Plant.* 2010. No 6. P. 942-955.
- 3) Xu S.M., Brill E., Llewellyn D.J., Furbank R.T., Ruan Y.L. Overexpression of a potato sucrose synthase gene in cotton accelerates leaf expansion, reduces seed abortion, and enhances fiber production // *Mol Plant.* 2012. No 2. P. 430-441.

Анализ экспрессии генов липидного метаболизма у *Euphytius europaeus* с помощью транскриптомного анализа ариллусов на разных стадиях развития плода

Научный руководитель – Голденкова-Павлова Ирина Васильевна

Павленко Ольга Сергеевна

Аспирант

Российский государственный аграрный университет МСХА имени К.А. Тимирязева,
Агрономии и биотехнологии, Генетики и биотехнологии, Москва, Россия

E-mail: helliga.p@gmail.com

Секвенирование транскриптома дает возможность изолировать интересующие гены, разрабатывать функциональные маркеры, осуществлять количественное определение экспрессии генов и проводить сравнительные геномные исследования. Полный транскриптомный анализ играет важную роль в расшифровке структуры и функции генома, идентифицируя генетические сети, лежащие в основе клеточных, физиологических, биохимических и биологических систем.

Настоящее исследование посвящено изучению генов липидного метаболизма из бересклета европейского (*Euphytius europaeus*). Интерес к растениям бересклета обусловлен тем, что эти растения, наряду с обычными триацилглицеридами (ТАГ), синтезируют и необычные их формы - *sn*1,2-диацил-3-ацетилглицеринов (*ac*ДАГ). Причем накопление как ТАГ, так и *ac*ДАГ происходит и в семенах и в ариллусах плодов. За счёт наличия *ac*ДАГ жирные масла бересклетов приобретают уникальные свойства, имеющие высокую ценность для производства биотоплива, а растения данного рода становятся потенциальными донорами генов для создания генетически модифицированных линий сельскохозяйственных культур с изменённым составом масла.

Для лучшего понимания механизмов биосинтеза *ac*ДАГ был проведен транскриптомный анализ трех образцов из ариллусов *E. europaeus*, собранных на разных стадиях развития плода. Первый образец (первая стадия развития плода) характеризовался максимальным уровнем содержания *ac*ДАГ и минимальным уровнем ТАГ, второй образец приблизительно равным содержанием *ac*ДАГ и ТАГ, третий образец минимальным уровнем *ac*ДАГ и максимальным уровнем ТАГ. Транскриптомный анализ проводили с помощью Illumina HiSeq 2500. В результате было получено 152777 транскриптов. Анализ экспрессии трех образцов позволил выявить на каждой стадии развития уникальные транскрипты. С помощью Blast2GO была определена вероятная функциональная принадлежность этих транскриптов и выявлены последовательности-кандидаты в гены липидного метаболизма у *E. europaeus*. С помощью специально разработанного программного обеспечения были проанализированы уровни экспрессии генов *dgat* на разных стадиях развития плода. Полученные данные также могут послужить основой для изучения других метаболических путей у растений бересклета.

Работа выполнена при поддержке Гранта РФФИ 17-74-10127.

Устойчивость фотосинтетического аппарата к свету высокой интенсивности у растений томата (*Solanum lycopersicum* L.) и его фоторецепторных мутантов

Научный руководитель – Креславский Владимир Данилович

Строкина Валерия Владимировна

Аспирант

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, Россия

E-mail: strokina.93@mail.ru

Свет высокой интенсивности (СВИ) является одним из основных стрессовых факторов, влияющих на работу фотосинтетического аппарата (ФА) [1]. При этом фотосистема 2 (ФС2) является самым чувствительным компонентом ФА к действию стрессовых факторов [1,2].

В световой регуляции активности фотосинтетического аппарата важную роль играет система фоторецепторов фитохромов (Фх). Существует много типов фитохрома (Фх). У томата их 5: ФхА, ФхВ1, ФхВ2, ФхЕ и ФхF [3]. Основные типы - это ФхА и ФхВ. Также существует 2 основных типа криптохромов: 1 и 2. Однако механизм участия фоторецепторов в процессах адаптации и регуляции устойчивости ФА к действию различных стрессовых факторов мало изучен.

В приведенном исследовании была показана разница в чувствительности к кратковременному облучению (2 ч) СВИ растений томата дикого типа и его мутантов с дефицитом ФхА, ФхВ и криптохрома 1. В сравнении с диким типом (LA2706), наиболее чувствительными к СВИ по всем показателям, отражающим фотосинтетическую активность, оказался тройной мутант, дефицитный по ФхА, ФхВ1 и криптохрому 1 (LA4367). Самым устойчивым оказался мутант дефицитный по ФхВ2 (LA4358). Кроме того, двойной мутант дефицитный по ФхВ1 и ФхВ2 (LA4364) был менее устойчив, чем мутант дефицитный по ФхВ2 и ФхА (LA4362). Разница в чувствительности ФА отчасти объясняется обнаруженным нами различием у ДТ и мутантов в антиоксидантном потенциале, оцененном по активности ключевых антиоксидантных ферментов. Исходные активности ферментов, таких как аскорбатпероксидаза (АсП) и глутатионредуктаза (ГР) были заметно выше у ФхВ2 мутанта по сравнению с диким типом и тройным мутантом LA4367 и эта тенденция сохранялась и после облучения растений СВИ.

Источники и литература

- 1) Бондаренко О.Ю. и др. Тепловая диссипация и транспорт электронов как факторы, влияющие на фотоинактивацию фотосистемы II // Физиология и биохимия культурных растений. Киев. 2011. Т. 43. № 3.
- 2) Креславский В.Д. и др. Молекулярные механизмы устойчивости фотосинтетического аппарата к стрессу // Биологические мембраны . 2007. Т. 24. № 3. С. 195–217.
- 3) Gavassi.M. A. et.al. Phytochromes are key regulators of abiotic stress responses in tomato // Scientia Horticulturae. 2017. 222. P. 126–135.