

**Влияние солевого стресса на ферментативную активность
гидроксibuтиратдегидрогеназы в листьях кукурузы (*Zea mays* L.)**

Научный руководитель – Епринцев Александр Трофимович

Анохина Г.Б.¹, Плотникова Е.В.²

1 - Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия, *E-mail: dowi2009@mail.ru*; 2 -
Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия, *E-mail:*
kate_plotnikova36@mail.ru

Солевой стресс является распространенным абиотическим стрессом, ограничивающим рост, развитие и урожайность сельскохозяйственных культур. Механизм реакции на соль представляет собой очень сложный и интересный процесс, в котором у растений участвуют различные компоненты клетки [1].

γ -гидроксibuтиратдегидрогеназа (ГБДГ, КФ 1.1.1.61) – фермент класса оксидоредуктаз, катализирующий обратимую реакцию превращения γ -гидроксibuтирата в сукциниловый полуальдегид, при этом НАД⁺ восстанавливается до НАДН [2]. Энзим обеспечивает функционирование ответвления ГАМК-шунта в условиях действия различных стрессовых факторов.

В качестве объектов исследования использовали листья 12-дневных проростков кукурузы (*Zea mays* L.) сорта «Воронежская 76», выращенные гидропонным методом.

Постановка эксперимента по действию солевого стресса осуществлялась путём помещения растений из опытной группы с предварительно удаленной корневой системой в 150 мМ раствор NaCl на 24 часа. В качестве контрольной группы использовались растения, помещённые в воду. Опытные образцы изымались из инкубационной среды через час, три часа, шесть, двенадцать часов и спустя сутки от начала эксперимента.

Активность γ -гидроксibuтиратдегидрогеназы измеряли спектрофотометрически по реакции превращения γ -гидроксibuтирата до янтарного полуальдегида, путем регистрации образовавшегося НАДН при 340 нм [3].

В ходе эксперимента было установлено, что инкубация проростков в растворе хлорида натрия вызывает увеличение ферментативной активности ГБДГ (Рис. 1).

Было показано, что активность фермента в первый час засоления увеличивается в 3 раза, и, хотя в последующие часы снижается, остается выше контрольных значений. Начиная с 12 часа солевого стресса активность ГБДГ вторично увеличивается, достигая своего максимума к 24 часу эксперимента. При этом, показатели общей ферментативной активности исследуемого фермента более чем в 10 раз превышает контрольные значения.

Таким образом, в ходе проведенного исследования динамики каталитической активности γ -гидроксibuтиратдегидрогеназы в условиях засоления было выяснено, что в листьях кукурузы наблюдается увеличение активности ГБДГ с первого часа инкубации проростков в 150 мМ растворе NaCl. Полученные данные демонстрируют компенсаторную активацию ответвления пути ГАМК посредством увеличения скорости функционирования ГБДГ, что способствует образования ГОМК из сукцинилового полуальдегида.

Источники и литература

- 1) Ochsner A. M. et al. In vitro activation of NAD-dependent alcohol dehydrogenases by Nudix hydrolases is more widespread than assumed //FEBS letters. – 2014. – Т. 588. – №. 17. – С. 2993-2999.

- 2) Breitzkreuz K. E. et al. A novel γ -hydroxybutyrate dehydrogenase: identification and expression of an Arabidopsis cDNA and potential role under oxygen deficiency //Journal of Biological Chemistry. – 2003. – Т. 278. – №. 42. – С. 41552-41556.
- 3) Taxon E. S., Halbers L. P., Parsons S. M. Kinetics aspects of Gamma-hydroxybutyrate dehydrogenase //Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics. – 2020. – Т. 1868. – №. 5. – С. 140376

Иллюстрации

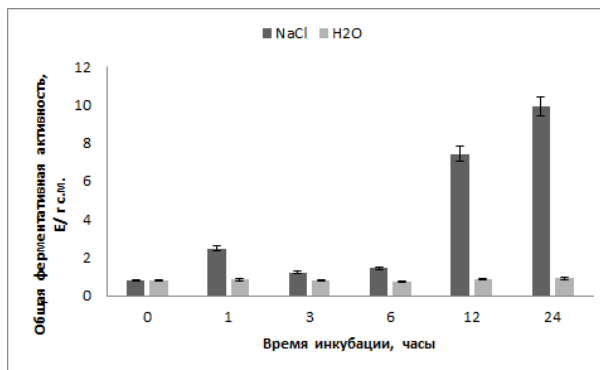


Рис. 1. Динамика изменения удельной ферментативной активности ГБДГ в листьях кукурузы в условиях солевого стресса

Характеристика N-ацетил-L-глутаматкиназы *Dunaliella salina*

Научный руководитель – Ермилова Елена Викторовна

Власова Виталина Анатольевна

Аспирант

Санкт-Петербургский государственный университет, Биологический факультет,

Санкт-Петербург, Россия

E-mail: derkachvita99@gmail.com

Синтез аргинина играет важную роль в процессах метаболизма азота у растений, поскольку эта аминокислота используется не только для биосинтеза белков, но также выступает предшественником в образовании окиси азота и полиаминов, которые, в свою очередь, участвуют в адаптации к стрессовым условиям. Ключевым ферментом биосинтеза аргинина у представителей Chlorophyta является N-ацетил-L-глутаматкиназа (NAGK) [1]. При этом у Cyanobacteria и Archaeplastida активность этого фермента контролируется сигнальным белком из семейства PII.

У галофильной зеленой водоросли *Dunaliella salina* ген, кодирующий PII-белок, был обнаружен лишь в 2020 году [2], поэтому вопрос о вовлечении PII в процесс контроля NAGK у этого организма до сих пор оставался открытым. Целью данной работы стало описание свойств и механизмов регуляции ключевого фермента биосинтеза аргинина N-ацетил-L-глутаматкиназы у галофильной одноклеточной зеленой водоросли *D. salina*.

Для этого мы поставили следующие задачи: (1) Методами клонирования и аффинной хроматографии получить рекомбинантную N-ацетил-L-глутаматкиназу (*DsaNAGK*) и PII-белок *D. salina*. (2) Охарактеризовать кинетические параметры полученного фермента и сравнить их со свойствами изученных ранее N-ацетил-L-глутаматкиназ. (3) Оценить роль PII-белка в контроле активности *DsaNAGK*.

Проведенный анализ свойств и механизмов регуляции *DsaNAGK in vitro* показал, что этот фермент ингибируется аргинином по принципу обратной связи, а значит относится к аргинин-чувствительным N-ацетил-L-глутаматкиназам. Сравнение каталитической активности *DsaNAGK* с другими одноклеточными зелеными водорослями позволяет говорить о сходных ферментативных возможностях, а имеющиеся отличия, вероятнее всего, отражают особенности метаболизма разных представителей.

Пул-даун эксперимент показал, что *DsaPII*-белок взаимодействует с *DsaNAGK*. Однако фермент не контролируется собственным PII. С другой стороны, в гетерологичных экспериментах с PII близкородственной водоросли *Chlamydomonas reinhardtii* PII-зависимый контроль *DsaNAGK* зафиксирован. Высказано предположение, что в процессе эволюции галофильная водоросль утратила зависимость синтеза аргинина от глутамина.

Источники и литература

- 1) Selim K. A., Ermilova E., Forchhammer K. From cyanobacteria to Archaeplastida: new evolutionary insights into PII signalling in the plant kingdom. // New Phytologist. 2020. V. 227(3). P. 722-731.
- 2) Polle J. E. W., Calhoun S., McKie-Krisberg Z. [et al.] Genomic adaptations of the green alga *Dunaliella salina* to life under high salinity // Algal Research. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101990>

Изучение флуоресцентных параметров и пигментного состава *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss.**Научный руководитель – Пиняскина Елена Владимировна*****Гусейнов Артур Олегович****Студент (бакалавр)*

Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия

E-mail: arturgusejnov2001@gmail.com

В рамках проведения эколого-ботанического мониторинга перспективных сырьевых видов флоры Кавказа интерес вызывают представители рода *Hedysarum*, особенно эндемичные виды. К числу таких редких и эндемичных видов относится копеечник дагестанский (*Hedysarum daghestanicum*), занесенный в Красную книгу РФ (2008), мезоксерофит, растущий на высотах от 320 м до 1800 м. Измерение и анализ параметров флуоресценции хлорофилла *a* позволяет диагностировать физиологическое состояние растений, выяснить механизм действия стресса на исследуемый объект и оценить адаптационные возможности. Нами исследованы (ПАМ-флуорометрия) флуоресцентные параметры копеечника как при темновой адаптации, так и в естественных условиях на свету. Флуоресцентные исследования показали, что потери избыточной энергии в виде максимальной флуоресценции невелики и составляют 15%, в то время как основная часть поглощенного света (~60%) идет на фотохимию, а оставшиеся 25% диссипируют в тепло. Максимальный квантовый выход фотосинтеза (Fv/Fm) высок и приближается к теоретически возможному 0,84, что указывает на высокую адаптацию копеечника к абиотическим факторам. Анализ дополнительных квантовых выходов ФС2 показал, что уровень регулируемых потерь (Y(NPQ)) составляет 20%, нерегулируемых Y(NO) - 12%. Преобладание регулируемых потерь Y(NPQ) показывает, что потоки избыточной энергии хорошо регулируются (за счет работы ΔpH и зеаксантин-зависимых механизмов) и избыточная энергия возбуждения безопасно рассеивается на уровне антенны.

Поскольку одним из показателей адаптивности растения является соотношение Хл *a/b*, отражающее долю хлорофилла, связанного светособирающими комплексами и являющегося показателем функциональной пигментной оснащенности и светоадаптации фотосинтетического аппарата, был проведен качественный и количественный анализ фотосинтезирующих пигментов копеечника дагестанского. Показано, что содержание Хл *a* превалирует, соотношение Хл *a/b* » 3,22, а Хл (a+b)/Кар » 5,5, что типично для светолюбивых растений. Увеличение количества хлорофилла и свето-собирающих комплексов, компонентов цикла Кальвина-Бенсона (особенно концентрации фермента РБФК) приводит к активации транспорта электронов, увеличению выделения кислорода и усилению ассимиляции углекислого газа. Такие изменения имеют адаптивное значение, т.к. увеличение фотосинтетической способности снижает восприимчивость к фотоповреждениям.

Таким образом, проведенные исследования показали высокую адаптивность копеечника дагестанского к абиотическим стресс-факторам, что свидетельствует о том, что данный мезофит, растущий в условиях сильной инсоляции и недостатка влаги, имеет комплекс специфических адаптаций, которые направлены на минимизацию амплитуды изменений физических параметров окружающей среды, предотвращающих разрушение фотосинтезирующих клеток и их органелл.

Внеклеточные вторичные метаболиты мха *Ceratodon purpureus*: источник новых антибактериальных соединений.**Научный руководитель – Валеева Лия Рашитовна****Джабраилова Саида Мурадовна**

Студент (магистр)

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Кафедра микробиологии, Казань, Россия

E-mail: *penguinaz00@gmail.com*

Проблема роста антибиотикорезистентности патогенных и условно-патогенных бактерий является одной из ключевых задач мирового здравоохранения, одним из решений которой является поиск новых антибактериальных соединений. Среди защитных механизмов растений от фитопатогенов важную роль играют разнообразные вторичные метаболиты, включая пептиды и другие малые молекулы, в связи с чем растения представляют перспективный источник антимикробных веществ. Одними из малоизученных резервуаров новых антимикробных метаболитов являются бриофиты (зеленые и антоцеротовые мхи, печеночники) - вторая по численности группа наземных растений. Было показано, что они способны производить около 3000 различных химических веществ, включая фенольные соединения, полифенолы, бибензилы и терпеноиды [1]. Широкий спектр синтезируемых соединений обуславливает антибиотическую, противоопухолевую и антиоксидантную активности экстрактов бриофитов [2]. В то же время свойства внеклеточных метаболитов мохообразных остаются недостаточно изученными. Целью данной работы являлось определение антибактериальной активности секретируемых метаболитов мха *Ceratodon purpureus*.

Растения *Ceratodon purpureus* линии R40 (мужское растение) культивировали в жидкой среде BCD в течение 4 недель. Внеклеточные метаболиты из экссудатов выделяли путем фильтрации среды и адсорбции на ионообменной гидрофобной смоле Amberlite XAD-16. Метаболиты экстрагировали метанолом и высушивали на роторном испарителе при 30 °С. Оценку антибактериальной активности проводили диско-диффузионным методом на бактериальных тест-культурах грамположительного (*Staphylococcus aureus* ATCC25923) и грамотрицательного (*Serratia marcescens* SM6) морфотипов.

Показано, что внеклеточные метаболиты *C. purpureus* линии R40 подавляли рост грамположительных бактерий *S. aureus* ATCC25923 при концентрации 5 мг сухого вещества/диск (диаметр зоны подавления роста $10 \pm 0,2$ мм), но не оказывали антибактериального действия в отношении грамотрицательных бактерий *S. marcescens* SM6.

Таким образом, для метанольной фракции низкомолекулярных соединений, выделенных из бриофита *Ceratodon purpureus* R40, показана антибактериальная активность по отношению к грамположительным бактериям *S. aureus*. В дальнейшем планируется идентификация биоактивных компонентов в полученных фракциях внеклеточных метаболитов и исследование их физико-химических свойств, что даст более полное представление об антимикробном потенциале исследуемого бриофита. Работа выполнена при поддержке стипендии Президента СП-3391.2021.4 в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030).

Источники и литература

- 1) Cianciullo, P., Viviana M., Sergio S., Adriana B. "Antioxidant and Antibacterial Properties of Extracts and Bioactive Compounds in Bryophytes" // Applied Sciences. 2022. V.12(1). P. 160.
- 2) Valeeva, L.R. et al. Antimicrobial Activities of Secondary Metabolites from Model Mosses. // Antibiotics. 2022. V.11. P. 1004.

Оценка влияния моделируемой засухи на экспланты *Spartium junceum* L в культуре *in vitro*

Мельник Софья Васильевна

Сотрудник

Федеральный научный центр агроэкологии, комплексных мелиораций и защитного лесоразведения РАН, Волгоград, Россия
E-mail: melnik-s@vfanc.ru

Дрок испанский (*Spartium junceum* L.) - это многолетний листопадный кустарник, растущий на крутых каменистых склонах у моря для берегоукрепления. По результатам исследования, проведенного Bezic N. с соавторами, *S. junceum* с анатомической и биохимической точки зрения является ксерофитом и обладает способностью адаптироваться к условиям засухи [1]. Целью данного исследования являлась оценка влияния дефицита доступной воды на экспланты *S. junceum* в культуре *in vitro*. Для моделирования почвенной засухи в питательную среду Мурасиге - Скуга добавляли осмотик полиэтиленгликоль 6000 (ПЭГ). Это неионный водорастворимый полимер, который уменьшает водный потенциал среды. Концентрации осмотика составляли 20 г/л (ПЭГ 20); 40 г/л (ПЭГ 40); 60 г/л (ПЭГ 60) и 0 г/л (ПЭГ 0) в качестве контроля. После 6 недель культивирования для оценки влияния осмотического стресса была проведена экстракция хлорофилла и каротиноидов из листовых пластин с помощью диметилсульфоксида [2] и определено процентное содержание воды в стебле [3]. Статистическую достоверность различий определяли с помощью критерия Манна-Уитни ($p \leq 0,05$).

По результатам исследования, у эксплантов опытной группы отмечалось образование белого налета, что является адаптационным механизмом для сохранения воды в растении, однако рост растения и формирование корней отсутствовали. Под воздействием водного стресса отмечались изменения в пигментном составе. Статистически достоверное уменьшение содержания хлорофилла (общего, *a*, *b*) и каротиноидов отмечено между данными, полученными на контрольной группе, ПЭГ 20 и ПЭГ 40, ПЭГ 60. Содержание воды в контрольной группе составляло 82,48%, а в опытных от 78,71% до 79,1%, статистически достоверных изменений не обнаружено.

Таким образом, согласно полученным результатам исследования, экспланты *S. junceum* оказались восприимчивы к условиям моделируемой засухи: Это проявлялось в отсутствии корнеобразования, ингибировании роста растения и угнетении работы фотосинтетического аппарата.

Финансирование: Работа выполнена в рамках исполнения плана научно-исследовательской работы ФНЦ агроэкологии РАН № 122020100427-1 «Разработать научные основы сохранения и воспроизводства ценных генотипов древесных и кустарниковых растений в культуре in vitro».

Источники и литература

- 1) Bezic N., Dunkic V., Radonic A. Anatomical and chemical adaptation of *Spartium junceum* L. in arid habitat //Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica. 2003. Vol. 45. №. 2. P. 43-47.
- 2) Staruhina A.O., Popova A.S., Zaitsev V.G. The Quantification of Chlorophylls and Carotenoids in the Same Sample of an Individual Condition Assessment of Agricultural Plant's Seedlings //Научно-агрономический журнал. 2021. №. 2 (113). P. 18-22.

- 3) Исякаева Р. Р., Голубкина Е. В., Хазова Н. А. Определение экстрактивных веществ в растении рода солерос (*Salicornia perennans* Willd) //Современные достижения молодых ученых в биологии и медицине. 2021. С. 36-38.

Динамика ферментативной активности глутаматдекарбоксилазы в листьях кукурузы *in vivo* при действии гипоксии.

Научный руководитель – Епринцев Александр Трофимович

Москвина П.П.¹, Анохина Г.Б.²

1 - Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия, *E-mail: polinamoskvina2001@gmail.com*; 2 - Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия, *E-mail: dowi2009@mail.ru*

В связи с глобальными изменениями климата, загрязнением окружающей среды, изучение механизмов приспособления растений к изменяющимся условиям среды обитания становится особенно актуальным. Способность растений произрастать в обедненной кислородом среде связана с формированием целого комплекса анатомо-морфологических и физиолого-биохимических приспособлений [2]. В настоящее время вопросы о приспособлении метаболических путей у растений, попадающих в условия кислородного дефицита, остаются недостаточно изученными [1]. Глутаматдекарбоксилаза (ГДК, L-глутамат-1-карбоксилиаза К.Ф. 4.1.1.15, glutamic acid decarboxylase) катализирует превращение глутамата в γ -аминобутират и углекислый газ [3]. Растительный ГДК представляет собой гексамер с молекулярной массой около 340 кДа, участвующий в развитии и реакции на стресс [4]. Данный фермент является ключевым в ГАМК-шунте - обходном пути ЦТК, который активируется при различных стрессах.

Целью данной работы было исследование влияния гипоксии на динамику ферментативной активности ГДК в листьях кукурузы.

В качестве объекта исследования в работе использовали листья 14-дневной кукурузы (*Zea mays* L.) сорта Воронежская 76, выращенные гидропонным способом при 12-часовом световом дне. Контрольная группа помещалась в вакуум-эксикатор с постоянным притоком кислорода воздуха. Опытная группа находилась в вакуум-эксикаторе, куда подавался азот из баллона. Активность ГДК измеряли спектрофотометрически при длине волны 620 нм по реакции протонирования бромкрезола зеленого [5].

В ходе работы было выяснено, что активность глутаматдекарбоксилазы растет с первого часа инкубации проростков кукурузы в условиях низкой концентрации кислорода (рис. 1).

При недостатке кислорода в окружающей среде в клетках растения происходят значительные перестройки метаболических путей. Благодаря анализу активности глутаматдекарбоксилазы мы можем сделать вывод, что при гипоксических условиях усиливается работа именно ГАМК-шунта.

Источники и литература

- 1) Астафурова Т. П., Войцековская С. А., Верхотурова Г. С. Исследование путей адаптации растений к гипобарической гипоксии // Вестник Томского государственного университета. Биология. – 2007. – №. 1. – С. 67-74.
- 2) Войцековская С. А. и др. Активность некоторых ключевых ферментов метаболизма в зеленых проростках ячменя при гипобарической гипоксии // Вестник Томского государственного университета. – 2007. – №. 297. – С. 181-183.
- 3) Сухарева Б. С., Дарий Е. Л., Христофоров Р. Р. Глутаматдекарбоксилаза: структура и каталитические свойства // Успехи биологической химии. – 2001. – Т. 41. – С. 131-162.

- 4) Gut H. et al. A common structural basis for pH-and calmodulin-mediated regulation in plant glutamate decarboxylase //Journal of molecular biology. – 2009. – Т. 392. – №. 2. – С. 334-351.
- 5) Yu K. et al. A high-throughput colorimetric assay to measure the activity of glutamate decarboxylase //Enzyme and microbial technology. – 2011. – Т. 49. – №. 3. – С. 272-276.

Иллюстрации

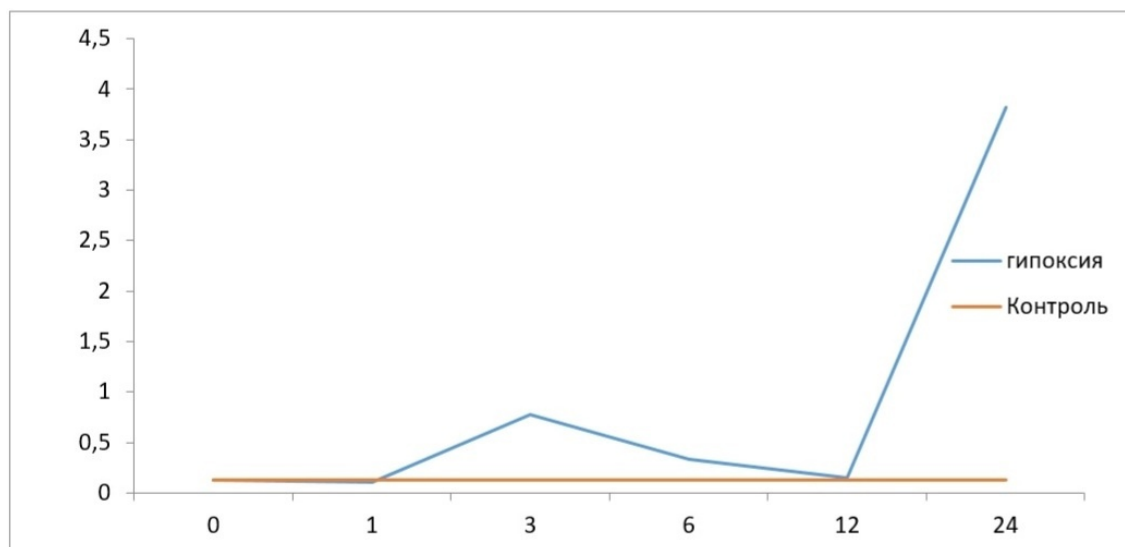


Рис. 1. Изменение общей ферментативной активности ГАД в проростках кукурузы при гипоксии.

Оценка влияния состава питательной среды на параметры hairy roots *Withania somnifera*

Назмиева И.Н.¹, Михайлова Е.В.²

1 - Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы, Уфа, Россия, E-mail: nazilvina2517@gmail.com; 2 - Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия, E-mail: mikhele@list.ru

Withania somnifera — это древесный кустарник, также известный как «ашваганда», «индийский женьшень» или «зимняя вишня». В традиционной медицине он широко использовался для лечения различных заболеваний. Современная наука подтверждает, что витанолиды в составе *W. somnifera* обладают широким спектром фармакологических свойств, таких как противомикробные, противовоспалительные, антистрессовые, противоопухолевые, нейропротекторные, кардиопротекторные [2]. В мире активно разрабатываются способы биотехнологического производства витанолидов в hairy roots (бородатых или волосовидных корнях, получаемых из растительных эксплантов при помощи бактерий *Agrobacterium rhizogenes*). По данным исследований, изменение содержания в питательной среде KNO_3 , KH_2PO_4 , CaCl_2 , MgSO_4 может влиять на скорость роста корней и накопление витанолидов. Также ранее не проверялось влияние на эти параметры содержания в среде агара.

В ходе эксперимента три линии ранее полученных корней 15834(2), 15834(55) и А4(5) [1] выращивались на 4 типах сред в течение 39 дней, после чего измерялась сухая масса корней. Помимо ранее оптимизированной среды MSB [1] использовалась среда MSB с на 25% увеличенным содержанием агара, среда MSA с добавлением KNO_3 -1,9 г/л, KH_2PO_4 -0,17 г/л, CaCl_2 -0,33 г/л, MgSO_4 -0,19 г/л и половинная среда MSF с добавлением KNO_3 -2,85 г/л, KH_2PO_4 -0,25 г/л, CaCl_2 -0,49 г/л, MgSO_4 -0,29 г/л. Результаты исследования представлены на Рис. 1

Таким образом, оптимальное накопление биомассы hairy roots происходило в питательной среде MSB (с неизменным составом), тогда как показатели роста в других типах сред варьировались в зависимости от линии. Изменение состава питательной среды не оказывало ожидаемого положительного влияния на рост hairy roots *W. somnifera*. В дальнейшем будет исследовано содержание витанолидов в экспериментальных корнях.

Исследование поддержано стипендией Президента Российской Федерации для молодых ученых СП-5175.2022.4.

Источники и литература

- 1) Михайлова Е.В., Кулуев Б.Р., Ясыбаева Г.Р., Чемерис А.В. Создание культур бородатых корней *Withania somnifera* и оценка параметров их роста при выращивании на твердых и жидких питательных средах // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова. - 2017. - Т. 13. - №2. - С. 40-46
- 2) Михайлова Е.В. Перспективы использования лекарственного растения *Withania somnifera* для производства фармацевтических препаратов биотехнологическим способом // Biomics. 2022. Т.14(3). С. 192-208. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2022-14

Иллюстрации

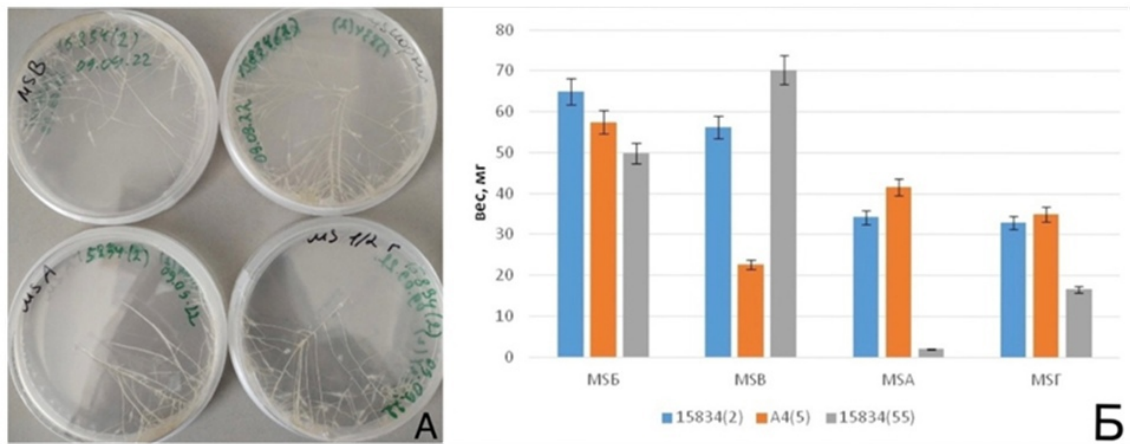


Рис. : 1. Hairy roots *W. somnifera* в разных питательных средах (А) и их сухая масса (Б)

Синтез оксида азота II и его действие в клетках нефотосинтезирующей водоросли *Polytomella parva*

Научный руководитель – Ермилова Елена Викторовна

Статинов Владислав Романович

Студент (магистр)

Санкт-Петербургский государственный университет, Биологический факультет,
Санкт-Петербург, Россия

E-mail: st067882@student.spbu.ru

Оксид азота II (NO) - это редокс-активная молекула, которая координирует многие физиологические и биохимические процессы в организмах разного уровня организации. Одноклеточная нефотосинтезирующая водоросль *Polytomella parva* не имеет нитрат- и нитритредуктазы и не способна ассимилировать нитрат и нитрит. Ранее не было показано, синтезируется ли NO в клетках данной водоросли. Цель работы состояла в выявлении механизмов генерации NO и его действия в клетках *P. parva*.

Были поставлены следующие задачи: (1) Установить, происходит ли формирование NO у *P. parva* по окислительному или восстановительному пути. (2) Выяснить, используется ли клетками *P. parva* фермент, функционально сходный с NO-синтазой *Ostreococcus tauri*. (3) Проанализировать, происходит ли в клетках *P. parva* NO-зависимая пост-трансляционная модификация белков по типу S-нитрозилирования.

Известно, что у зелёной водоросли *Ostreococcus tauri* NO-синтаза генерирует окись азота, причем продукция NO увеличивается при добавлении в среду аргинина. С помощью спектрофлуориметрического анализа и конфокальной микроскопии было показано, что *P. parva* формирует NO по аргинин-зависимому механизму. Данные газовой хроматографии-масс-спектрометрии свидетельствуют, что путресцин не является субстратом для синтеза NO. Полученные данные предполагают наличие у *P. parva* функционального аналога NO-синтазы, катализирующего образование NO из L-аргинина.

S-нитрозилирование белков играет важную роль в NO-зависимой передаче сигнала у растений. Впервые показано, что при смене аммония на аргинин в качестве источника азота в клетках нефотосинтезирующей водоросли *Polytomella parva* происходит замедление роста и S-нитрозилирование нескольких белков, имеющих молекулярную массу в интервале от ~27 до 70 кДа; посттрансляционная модификация этого типа, по нашему мнению, является этапом сигнального пути, приводящего к NO-зависимому контролю роста *P. parva* в среде с аргинином [1].

Источники и литература

- 1) Lapina T.V., Kochemasova L.Y., Forchhammer K., Ermilova E.V. Effects of arginine on *Polytomella parva* growth, PII protein levels and lipid body formation // *Planta*. 2019. V. 250, №4. P. 1379-1385.

Ингибирование фенольных соединений на этапе введения в культуру *in vitro* *Cotinus coggygia* Scop.

Фоменко Надежда Геннадьевна

Аспирант

Федеральный научный центр агроэкологии, комплексных мелиораций и защитного лесоразведения РАН, Волгоград, Россия

E-mail: FomenkoNG@yandex.ru

При микроклональном размножении *Cotinus coggygia* Scop, на этапе введения в культуру *in vitro*, происходит гибель клеток и выделение токсичных веществ (фенольные соединения) в местах повреждения целостности растительных тканей, это приводит к некрозу окружающих тканей, и снижает показатели роста и коэффициента размножения. Для нейтрализации негативного влияния фенольных соединений (ФС), в питательную среду добавляют сорбенты и антиоксиданты [1, 2].

Цель работы: модификация питательной среды путем включения в ее состав сорбентов и антиоксидантов для уменьшения концентрации фенольных соединений на этапе введения в культуру *in vitro* *C. coggygia*.

В питательную среду по прописи Мурасиге и Скуга (MS) добавляли 0,5 мг/л 6-бензиламинопурина (6-БАП), сорбент «Полисорб» в концентрациях 50, 100, 150 мг/л и параллельно его комбинацию с 100 мг/л антиоксиданта $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. Первичные экспланты (микропобеги с 1-2 междоузлиями) стерилизовали в 2 этапа: поверхностная стерилизация мыльным раствором и основная стерилизация 10-% перекись водорода 10 минут. Культивирование растений проводилось на фитостеллажах с 16-ти часовым фотопериодом и температурой 22-24 °С в течение 21 суток. Суммарное содержания ФС определяли на 7 сутки спектрофотометрическим методом с применением реактивов Фолина-Чокальтеу [3].

В ходе проведенного исследования было определено суммарное содержание ФС в эксплантах растений и питательной среде. Положительный эффект в снижении концентраций ФС наблюдался на всех типах модифицированных сред. На питательной среде с добавлением сорбента «Полисорб» в концентрациях 100 и 150 мг/л наблюдалась замедленная регенерация или полное ее отсутствие. На питательных средах с комбинацией «Полисорба» и $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ регенерация первичных эксплантов отмечалась на всех концентрациях. Таким образом, «Полисорб» в концентрации 100 мг/л, является критическим показателем концентрации для микроклонального размножения *C. coggygia*. Питательные среды с добавлением сорбента «Полисорб» 50 мг/л и его комбинацией с $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ во всех 3-х исследуемых концентрациях можно рекомендовать для снижения ингибирующего действия ФС на этапе введения в культуру *in vitro* первичных эксплантов *C. coggygia*.

Источники и литература

- 1) Бикметова К. Р., Терещенко Т. В. Модификация питательной среды на этапе введения в культуру *in vitro* с целью снижения отрицательного действия фенольных соединений // От модернизации к опережающему развитию: обеспечение конкурентоспособности и научного лидерства АПК / Материалы Междунар. науч.-практич. конф. Екатеринбург, 2022. С. 31–34.
- 2) Пугачева А. М., Бикметова К. Р., Смирнова Ю. С. Сорбенты фенолов как компоненты питательной среды в микроклональном размножении растений // Природные системы и ресурсы. – 2021. – Т. 11, № 3. – С. 39–48.

- 3) Sánchez-Rangel J. C. et al. The Folin–Ciocalteu assay revisited: improvement of its specificity for total phenolic content determination //Analytical Methods. – 2013. – Vol. 5. – No. 21. – P. 5990-5999.