

## Экспрессия генов стрессового ответа в лишайнике *Xanthoria parietina* при обезвоживании

Научный руководитель – Минибаева Фарида Вилевна

Ефремова Д.А.<sup>1</sup>, Лексин И.Ю.<sup>2</sup>

1 - Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Казань, Россия, *E-mail: efremovadasha6@gmail.com*; 2 - Казанский научный центр РАН, Казань, Россия, *E-mail: lecsinilya@mail.ru*

Лишайник – симбиотическая ассоциация, в состав которой входят фотобионт и микобионт. В качестве микобионта выступают преимущественно грибы отдела *Ascomycota*, фотобионт может быть представлен одноклеточной водорослью или цианобактерией. Благодаря способности лишайников выдерживать сильные стрессовые воздействия, их относят к организмам экстремофилам. Например, обезвоживание таллома может приводить к потере более 90 % относительного содержания воды (ОСВ), однако жизнеспособность лишайника при этом сохраняется. Механизмы устойчивости лишайников включают сохранение связанной воды в талломе, устранение негативных последствий, вызванных высыханием, а также регуляцию стрессового ответа на уровне экспрессии генов. На данный момент существуют лишь единичные работы по анализу экспрессии генов в лишайниках, подвергшихся стрессовым воздействиям. В настоящей работе был проведен анализ экспрессии генов стрессового ответа лишайника *Xanthoria parietina* при обезвоживании.

Обезвоживание лишайника проводилось в эксикаторе над перенасыщенным раствором  $\text{CaCl}_2$ . В ходе эксперимента был произведен расчет ОСВ по изменениям массы талломов. Образцы для выделения РНК и последующего синтеза кДНК были отобраны перед началом обезвоживания, через 5 ч и 17 ч обезвоживания и после регидратации в течение 1 ч. Уровень экспрессии генов был проанализирован методом ПЦР реального времени.

В ходе обезвоживания талломов *X. parietina* уровень ОСВ снизился до 46% через 5 ч и до 7% через 17 ч, а после регидратации восстановился до 91%. По результатам количественной ПЦР было выявлено повышение экспрессии гена белка гидрофобина – представителя группы небольших белков, образующих на поверхности микобионта и фотобионта водонепроницаемый слой. Вместе с этим увеличилась экспрессия генов ферментов, участвующих в антиоксидантной защите: каталазы, глутаредоксина, супероксиддисмутазы и метионинсульфоксидредуктазы, в то же время экспрессия гена альтернативной оксидазы не изменилась. Экспрессия генов, кодирующих осмочувствительные белки, была вариабельной. Гены, кодирующие RSN1 – осмочувствительный кальций-проницаемый канал и sho1 – осмосенсор, не показали статистически значимых изменений, однако уровень экспрессии гена, кодирующего осмосенсорную протеинкиназу *sgk1*, был повышен при обезвоживании. Из ферментов, участвующих в синтезе пигмента париетина, экспрессия повышалась для генов, кодирующих поликетидсинтазу и декарбоксилазу. Это может быть связано с тем, что предшественники париетина, относящиеся к группе антрахинонов, могут проявлять антиоксидантную активность.

Наши результаты позволяют предположить, что при обезвоживании в лишайнике *X. parietina* активируются генетические механизмы регуляции защитных белков, таких как гидрофобин, осморегуляторные белки, ферменты антиоксидантной защиты и биосинтеза фенольных соединений с антиоксидантной активностью.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 23-14-00327.

**Влияние штамма *Streptomyces* sp. КР-10 на меристемные растения картофеля *in vitro***

**Научный руководитель – Широких Ирина Геннадьевна**

**Мокрушина Светлана Эдуардовна**

*Студент (магистр)*

Вятский государственный университет, Кировская область, Россия

*E-mail: sveta.flouni@gmail.com*

Картофель — важнейшая продовольственная, кормовая и техническая культура, причиной снижения урожайности которой является заражение семенного материала патогенами. Для решения этой проблемы используют методы оздоровления *in vitro* и клонального микроразмножения картофеля. Для повышения выхода оздоровленного материала возможна инокуляция меристемных клонов рост-стимулирующими бактериями [2]. Бактерии рода *Streptomyces* способствуют росту растений, продуцируя витамины, адаптогены и регуляторы роста [1].

Цель работы – изучить влияние инокуляции штаммом *Streptomyces* sp. КР-10 на оздоровленные *in vitro* меристемные растения картофеля сорта Аленушка.

Меристемные растения картофеля выращивали на среде МС, инокулировали в процессе микроклонирования и пассажа на свежую питательную среду. Бактерии культивировали в жидкой питательной среде Гаузе 1 при 24<sup>0</sup>С в течение 7 сут. Для инокуляции использовали суспензию с титром 2,5×10<sup>5</sup> КОЕ/мл. Инокуляцию производили двумя способами – путем погружения микрочеренка в суспензию и путем капельного нанесения суспензии (10 мкл) на лист микрочеренка. Контролем служили необработанные растения. В каждом варианте инокулировали по 10 растений. Инкубацию осуществляли в течение 8 недель, как описано в [1]. Учитывали высоту побега, количество листьев, междоузлий и долю растений с морфологическими аномалиями.

На 28-е сут отметили увеличение высоты побега, количества листьев и междоузлий у растений, инокулированных путем погружения в бактериальную суспензию. В этом же варианте отмечено минимальное количество растений с аномалиями (20%). Среди растений, инокулированных путем капельного нанесения суспензии, количество аномальных составило 70%, снизилась высота побега по сравнению с контролем. К 53 сут было отмечено увеличение коэффициента размножения в варианте с погружением черенка в инокулят. При капельном нанесении инокулята наблюдали негативный эффект бактеризации на морфометрические показатели растений.

Таким образом, обработка растений сорта Аленушка штаммом *Streptomyces* sp. КР-10 способствует увеличению морфометрических показателей и коэффициента размножения картофеля. При инокуляции методом погружения черенка в инокулят количество аномальных растений меньше, чем при капельном нанесении бактериальной суспензии.

### **Источники и литература**

- 1) Бакулина, А.В. Назарова Я.И., Широких И.Г. Изучение влияния *Streptomyces antimycoticus* 8A13 на растения картофеля, зараженные бактерией *Clavibacter michiganensis* СММ 1519 // Методы и технологии в селекции растений и растениеводстве: Матер. VII Межд. науч.-практ. конф., Киров, 4–5 апреля 2021 года. Киров: ФАНЦ Северо-Востока им. Н.В. Рудницкого, 2021. С. 293-297.

- 2) Каргаполова К. Ю. и др. Повышение эффективности клонального микроразмножения картофеля при инокуляции ризосферными бактериями *Azospirillum baldaniorum* Sp245 и *Ochrobactrum cytisi* IPA7. 2 // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2022. Т. 26. №. 5. С. 422-430.

## Влияние солевого стресса на активность фумаратгидратазы подсолнечника

Научный руководитель – Епринцев Александр Трофимович

Сазонова Оксана Владимировна

Аспирант

Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

E-mail: oksana\_ragik@mail.ru

Стресс – эволюционно древняя, генетически детерминированная неспецифическая адаптивная реакция организма на воздействие необычных по силе, качеству или продолжительности действия раздражителей [3].

У растений это явление называется фитострессом, являющимся проявлением общего адаптационного синдрома живой системы [2]. Адаптация к стрессовым факторам – метаболически активный процесс, причем высшие растения имеют множество механизмов, помогающих выжить в условиях стрессовых воздействий [4]. Засоление почв – один из основных факторов как природного, так и антропогенного воздействия на растения [1].

Нами исследовалось действие солевого стресса на активность фумаратгидратазы (ФГ) подсолнечника – одного из ферментов цикла Кребса. В ходе эксперимента растения выдерживались в растворе хлорида натрия (150 мМ), контрольная группа растений – в дистиллированной воде. Установлено, что начиная с 1 часа экспозиции растений в растворе NaCl наблюдается постепенное увеличение каталитической активности ФГ и максимума данный показатель достигает на 6 час эксперимента. Происходит увеличение активности ФГ в 5,8 раза относительно контрольного варианта и составляет 22,5 Е/г сырой массы. В последующие часы эксперимента наблюдается постепенное снижение величины анализируемого показателя, который становится ниже контрольного уровня после 12 часов воздействия 150 мМ хлорида натрия на экспериментальные растения. Минимальная скорость функционирования ФГ в подсолнечнике установлена на 24 час эксперимента, в данный период величина активности составляет 0,53 Е/г сырой массы, что в 6,6 раза меньше контрольного значения.

Полученные результаты динамики активности ФГ в подсолнечнике при воздействии солевого стресса указывают, что данная ферментная система играет важную роль в адаптивной реакции клеточного метаболизма в первые часы воздействия стрессового фактора. Высокая активность ФГ на первых этапах стресс-индуцированного воздействия (в первые часы засоления), по-видимому, связана с необходимостью поддержания осмотического гомеостаза и обеспечения конструктивного метаболизма [5].

### Источники и литература

- 1) Добровольский, В. В. География почв с основами почвоведения. / В. В. Добровольский. – М.: Владос, 2001. – 384 с.
- 2) Парамонова Н. В., Шевякова Н. И., Кузнецов В. В. Ультраструктура хлоропластов и их запасных включений в первичных листьях *Mesembryanthemum crystallinum* при воздействии путресцина и NaCl // Физиология растений. – 2004. – Т. 51. – №. 1. – С. 99-109.
- 3) Селье Г. Стресс без дистресса / Г. Селье. - М.: Прогресс. - 1979. – 125 с.
- 4) Удовенко Г. В. Механизмы адаптации растений к засолению почвы: физиологические и генетические аспекты солеустойчивости растений //Ташкент: ФАН. – 1989. – С. 184.

- 5) Хаба А. М. и др. Экспрессионная регуляция генов малатдегидрогеназы в амаранте сорта "Харьковский" при засолении //Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2013. – №. 2. – С. 88-90.

**Оценка влияния продуктов жизнедеятельности *Chlorella vulgaris* на семена мягкой пшеницы (*Triticum aestivum*) и гречихи посевной (*Fagopyrum esculentum*)**

**Научный руководитель – Зорькина Ольга Владимировна**

***Соболева Надежда Павловна***

*Студент (бакалавр)*

Волгоградский государственный университет, Волгоград, Россия

*E-mail: nadezhda0825@gmail.com*

Сельскохозяйственные культуры играют большую роль в жизнедеятельности человека. Поэтому важной задачей является производство безопасной сельскохозяйственной продукции с минимальным использованием минеральных удобрений и химических средств защиты растений [2]. Актуальность темы заключается в том, что для защиты сельскохозяйственных культур могут быть использованы одноклеточные водоросли, которые в свою очередь являются природными биостимуляторами, укрепляющими иммунитет, повышающими стрессоустойчивость и урожайность [3]. Целью работы является изучение влияния продуктов жизнедеятельности представителей рода *Chlorella* на энергию прорастания и всхожесть семян двух видов сельскохозяйственных культур.

В проводимом опыте за основу была взята методика из ГОСТа 12038-84 [1]. Для проверки полезных свойств суспензии микроводоросли были использованы семена следующих растений: мягкая пшеница (*Triticum aestivum*) и гречиха посевная (*Fagopyrum esculentum*). Были заложены пробы с использованием суспензии одноклеточной водоросли *Chlorella vulgaris*, а также пробы с контролем. Для проведения опытов был использован штамм *Chlorella vulgaris* №С-111, состав которого характеризуется содержанием большого набора питательных веществ, таких как белок, липиды, углеводы, минеральные вещества, аминокислоты. Проращивание велось в условиях комнатной температуры 22-25 С°, при естественном освещении.

По результатам опыта, показатель энергии прорастания выше в вариантах с использованием суспензии *Chlorella vulgaris*, и составил соответственно 98 и 86%. Влияние продуктов жизнедеятельности микроводоросли на всхожесть семян неоднозначно. Наблюдаемая всхожесть в варианте с использованием семян гречихи посевной и суспензии хлореллы (76%) выше, чем в контроле (46%). В пробе с мягкой пшеницей показатель всхожести дает положительный результат в контрольном варианте (84%). Таким образом, использование суспензий одноклеточных водорослей *Chlorella vulgaris* на определенных этапах проращивания растений повышает их рост и развитие, благодаря ценному биохимическому составу. Данные показатели обусловлены видовыми особенностями растений, поэтому необходимы дополнительные исследования полезных свойств суспензии хлореллы, и изучение её влияния на различные виды сельскохозяйственных культур.

### **Источники и литература**

- 1) ГОСТ 12038-84. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. // Межгосударственный стандарт. Семена сельскохозяйственных культур. –М.: Стандартинформ, 2011. – С. 36-64.
- 2) Александрова О.А. Экологически чистая сельскохозяйственная продукция: вопросы производства, государственной поддержки, стандартизации // Никоновские чтения. 2009. № 14. С. 129-133.

- 3) Лукьянов В.А., Стифеев А.И. Прикладные аспекты применения микроводорослей в агроценозе. Курск, 2014.

## Оценка эффективности отбора трансгенных корней *Oxalis tuberosa* М. с помощью маркера RUBY

Научный руководитель – Ганчева Мария Семеновна

*Тимошичева Анастасия Васильевна*

*Выпускник (магистр)*

Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: timoshicheva.nastya@yandex.ru*

*Oxalis tuberosa* М. (кислица клубненосная) - многолетнее травянистое растение, которое выращивается в центральных и южных Андах из-за клубней [1], являющихся источником углеводов, витаминов и белков. Однако кислица клубненосная является малоизученным объектом для генной инженерии и для нее не разработаны способы трансформации. Для оценки

эффективности трансформации, а также для визуализации экспрессии генов, локализации белков и других клеточных активностей, широко используются репортерные конструкции. Репортер RUBY преобразует тирозин в ярко-красный беталаин, который хорошо виден невооруженным глазом без необходимости использования специального оборудования или химической

обработки, в связи с чем RUBY является эффективным скрининговым маркером при трансформации растений [2].

Целью работы является провести оценку эффективности отбора трансгенных корней *Oxalis tuberosa* с помощью маркера RUBY. Исследовательская работа включала приготовление питательных сред, трансформацию *Agrobacterium rhizogenes* (штамм Arqua) вектором, содержащим кассету RUBY, и трансформацию растений этим штаммом для получения композитных растений с

трансгенными корнями.

В результате трансформации были получены красные трансгенные корни *Oxalis tuberosa* (Рисунок 1), что означает успешную трансформацию и эффективность маркера RUBY для кислицы клубненосной.

### Источники и литература

- 1) Ajacopa T.L. Diccionario Bilingüe Iskay simipi yuyayk'ancha, La Paz, 2007 (Quechua-Spanish dictionary)
- 2) He Y., Zhan T., Sun H., Zhan H., Zhao Y. A reporter for noninvasively monitoring gene expression and plant transformation// Horticulture Research, V. 7, 2020, 152

### Иллюстрации





Рис. : Рисунок 1. Трансгенные корни *Oxalis tuberosa*, демонстрирующие работу маркера RUBY.