

Влияние препаратов Гуми и БиоАзФК на прорастание семян пшеницы

Научный руководитель – Рахматуллина Светлана Рифовна

Воротник Илья Сергеевич

Студент (специалист)

Уфимский университет науки и технологий, Биологический факультет, Кафедра биохимии и биотехнологии, Уфа, Россия

E-mail: iluya2025@mail.ru

Современное сельское хозяйство стремится к повышению продуктивности сельскохозяйственных культур при минимальном воздействии на окружающую среду. Использование биологических препаратов становится всё более популярным способом улучшения качества урожая без ущерба для экологии [1, 2]. В работе было рассмотрено сравнительное действие препаратов Гуми и БиоАзФК на прорастание семян пшеницы.

Исследование проводилось на экспериментальной площадке Уфимского университета науки и технологий. Были сформированы три группы семян мягкой яровой пшеницы сорта "Экада 70" - контрольная группа и две опытные группы, которые обрабатывались Гуми и БиоАзФК. Эксперимент длился два месяца, начиная с момента посадки семян.

Для оценки морфометрических показателей семян пшеницы измерялась масса тысячи семян, процент всхожести и скорость прорастания. Биохимический анализ включал определение содержания белков, жиров. Содержание белков в семенах определяли сразу после набухания.

Показано, что обработка семян растворами Гуми и БиоАзФК повышает интенсивность набухания в течение 72 ч после намачивания по сравнению с контролем, что приводит к более раннему достижению пороговых уровней и к активизации метаболических процессов. Известно, что под действием других препаратов, например, тритерпеновых гликозидов изменяется активность каталазы в прорастающих семенах в динамике после намачивания [1]. Масса тысячи семян оказалась выше в опытных группах по сравнению с контролем. Наибольший вес показали семена, обработанные комбинацией Гуми и БиоАзФК. Процент всхожести также был выше в опытных группах. Семена, обработанные Гуми имели самый высокий показатель всхожести, за ним следовала комбинация Гуми и БиоАзФК, а затем БиоАзФК. Скорость прорастания была самой высокой у семян, обработанных Гуми, за ним следовали семена, обработанные комбинацией Гуми и БиоАзФК и менее проросшими оказались семена, обработанные только БиоАзФК.

Содержание белков в семенах, обработанных комбинацией Гуми и БиоАзФК было заметно выше, чем в контроле.

Фотосинтетическую продуктивность определяли у 10-ти дневных растений пшеницы. Наблюдалась реакция фотосинтетической системы, определяющей продукционный процесс, и антиоксидантной системы, отвечающей за адаптационные свойства растений. Показано, что препараты повышают фотосинтетическую продуктивность пшеницы за счет увеличения фотосинтетического потенциала, синтеза хлорофиллов, каротиноидов, чистой продуктивности фотосинтеза, что отражается в повышении урожайности. Также установлено, что препараты усиливают активность антиоксидантного фермента - каталазы, и, следовательно, повышают антистрессовые возможности растительного организма.

Источники и литература

- 1) Давидянц Э.С. Влияние очищенной суммы тритерпеновых гликозидов и обогащенного ими экстракта из листьев *Silphium perfoliatum* L. на рост и активность нитратредуктазы растений озимой пшеницы // Химия растительного сырья. 2019. № 4. С. 441-448.
- 2) Павловская Н.Е. Влияние последействия регулятора роста и биопрепарата на посевные качества семян ячменя / Н.Е. Павловская, А.Г. Тимаков, И.В. Яковлева, Н.Ю. Агеева / Вестник аграрной науки. 2018. № 2 (77). С. 24-29.

Роль пептидов растений, содержащих сульфатированный тирозин (PSY), в координации роста и ответа на стресс у мха *Physcomitrium patens*

Научный руководитель – Мамаева Анна Станиславовна

Галыш Анастасия Андреевна

Студент (бакалавр)

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

E-mail: az123az.430@gmail.com

Растения – организмы, ведущие прикрепленный образ жизни, в связи с чем они вынуждены координировать процессы роста и реакции на стресс, чтобы приспособиться к постоянно меняющимся условиям среды. Растительные пептиды, содержащие сульфатированный тирозин (PSY), вовлечены в широкий спектр физиологических процессов, включая регуляцию программ роста и развития, а также реакции на биотические стрессовые факторы [1]. Ранее в ходе биоинформатического анализа сотрудниками лаборатории было выявлено два новых представителя семейства PSY-подобных пептидов (PSYL1, PSYL2), специфичных для мохообразных и реагирующих на биотический стресс. Мы исследовали роль пептидов PSY1, PSYL1 и PSYL2 у мха *Physcomitrium patens*, который является удобным модельным объектом системной биологии и позволяет проследить эволюционные закономерности адаптации растений к различным видам стрессового воздействия.

Для выявления роли PSY-пептидов в переключении между ростом растения и ответом на стресс, мы исследовали влияние синтетических сульфатированных и не сульфатированных пептидов PSY1, PSYL1 и PSYL2 на рост протонемы и продукцию внутриклеточных активных форм кислорода (АФК). Мы выявили, что все три исследуемых пептида приводят к увеличению диаметра колоний протонемы мха. Мы показали, что удлинение клеток наблюдается при обработке протонемы мха пептидами как в сульфатированной, так и несulfатированной формах. Также мы обнаружили, что пептиды PSYL1/2 стимулировали образование гаметофоров. Для детекции внутриклеточных АФК использовали флуоресцентный краситель 2',7'-дихлородигидрофлуоресцеин диацетат (DCFH-DA). Мы обнаружили, что обработка синтетическим не сульфатированным пептидом PSYL2 увеличивала концентрацию внутриклеточных АФК, а обработка PSY1 и suPSYL1 напротив, приводила к уменьшению уровня АФК. При помощи ПЦР в режиме реального времени мы проанализировали уровень экспрессии генов *PpPSY1* и *PpPSYL1* в ответ на обработку метилжасмонатом, и показали, что экспрессия *PSY1* увеличивалась через 4 часа и снижалась к 8 часам, а у *PSYL1* увеличивалась в обеих временных точках. В литературе представлены неоднозначные сведения о роли PSY-пептидов в регуляции биотического стресса. Согласно полученным нами данным, PSY1 и PSYL1 могут быть положительными регуляторами иммунного ответа, однако эта гипотеза нуждается в дальнейшем подтверждении.

Таким образом, пептиды PSY1, PSYL1 и PSYL2 — важный компонент системы контроля баланса между ростовыми процессами и защитными реакциями в условиях биотического стресса.

Работа выполнена при поддержке Российского Научного Фонда (Проект № 23-74-10048).

Источники и литература

- 1) Chen, Y. L., Fan, K. T., Hung, S. C., & Chen, Y. R. (2020). The role of peptides cleaved from protein precursors in eliciting plant stress reactions. *New Phytologist*, 225(6), 2267-2282.

Влияние прайминга семян на активность компонентов антиоксидантной системы растений пшеницы в условиях солевого стресса

Научный руководитель – Филиппова Галина Григорьевна

Жук Елизавета Андреевна

Студент (специалист)

Белорусский государственный университет, Биологический факультет, Кафедра клеточной биологии и биоинженерии растений, Минск, Беларусь

E-mail: elizaveta.zhuk.2016@mail.ru

Засоление почв – серьезная проблема для сельскохозяйственных культур, нарушающая нормальное прорастание семян и клеточный гомеостаз проростков [1]. Для снижения негативного действия засоления используется технология прайминга – предпосевная обработка семян, повышающая устойчивость растений к стрессовым условиям. Прайминг семян активизирует физиологические и биохимические процессы на разных уровнях организации, улучшая адаптивные характеристики растения в неблагоприятных условиях роста [2]. Солевой стресс приводит к окислительному стрессу через неконтролируемую генерацию активных форм кислорода (АФК). Ферменты антиоксидантной системы и низкомолекулярные антиоксиданты нейтрализуют АФК, поддерживая клеточный редокс-гомеостаз. Повышение их активности в ответ на стресс служит индикатором адаптации растения, демонстрируя его способность противостоять неблагоприятным условиям [3]. Цель работы – изучить влияние различных прайминг-агентов на активность ферментов антиоксидантной системы пероксидазы (ЕС 1.11.1.7) и супероксиддисмутазы (СОД) (ЕС 1.15.1.1), а также уровень продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в проростках пшеницы яровой при засолении 100 мМ NaCl. В качестве прайминг-агентов использовались водные растворы KCl (0.1 М), NaCl (0.1 М), KNO₃ (0.1 М), ПЭГ (20 %). Проведенное исследование показало, что связь между активностью ферментов и уровнем продуктов ПОЛ неоднозначна. В частности, ПЭГ-прайминг снижает содержание продуктов ПОЛ в проростках на 32% по сравнению с контролем, что может свидетельствовать о снижении скорости развития окислительного стресса. Активность ферментов в побегах и корнях изменяется в зависимости от типа применяемого прайминг-агента. Увеличение активности пероксидазы в побегах на 72% по отношению к контролю наблюдалось при использовании ПЭГ-агента. Действие засоления на предварительно обработанные прайминг-агентами KCl и NaCl проростки привело к повышению активности СОД в сравнении с контролем на 63% и 64% в побегах соответственно. Повышение активности антиоксидантных ферментов и снижение уровня продуктов ПОЛ может указывать на активацию защитных механизмов растения в ответ на стресс, свидетельствуя об эффективной защите от окислительного стресса.

Источники и литература

- 1) Chele, K. Soil Salinity, a Serious Environmental Issue and Plant Responses: A Metabolomics Perspective / K. Chele, M. M. Tinte, L. A. Piater [et. al.] // *Metabolites*. Vol. 11, №11. 2021.
- 2) Amir, M. Seed priming: An overview of techniques, mechanisms, and applications / M. Amir, D. Prasad, F. A. Khan [et. al.] // *Plant Science Today*. Vol. 11, 2024. №1. P. 553-563.

- 3) El-Beltagi, Hossam S. Reactive Oxygen Species, Lipid Peroxidation and Antioxidative Defense Mechanism / Hossam S. El-Beltagi, Heba I. Mohamed // Not Bot Horti Agrobi. Vol. 41, 2013. №1. P. 44-57.

Роль пептидов EPFL в иммунном ответе у мха *Physcomitrium patens*

Научный руководитель – Мамаева Анна Станиславовна

Майборода Александра Денисовна

Студент (магистр)

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

E-mail: alesandamay@yandex.ru

Семейство регуляторных пептидов EPIDERMAL PATTERNING FACTOR (EPF)/EPF-LIKE (EPFL) участвует во множестве морфогенетических процессов у цветковых растений. Однако есть основания предполагать, что эта группа пептидов также вовлечена в реакцию на биотический стресс. Так, рецептор EPFL участвует в повышении устойчивости к заражению патогенами, а изменение экспрессии генов *Pp3c6_12270* и *Pp3c2_13490* из данного семейства выявлено при анализе транскриптомов мха *Physcomitrium patens*, инфицированного патогенным грибом *Botrytis cinerea*. В настоящий момент известно, что PrEPF1 контролирует закладку устьиц у спорофита *P. patens* [1], однако роль остальных представителей семейства неизвестна. Поэтому целью нашей работы было выявить функции указанных дифференциально экспрессируемых генов.

При обработке протонемы мха рекомбинантным пептидом, представляющим собой консервативный участок последовательности *Pp3c6_12270*, в концентрациях 1-1000 нМ мы не обнаружили влияния пептида на длину клеток. У нокаутных мутантов по генам *Pp3c6_12270* и *Pp3c2_13490* длина клеток уменьшалась и увеличивалась соответственно, что говорит о том, что влияние этих генов на ростовые процессы в благоприятных условиях незначительно.

Мы предположили, что сигнальные молекулы, запускающие ответ на биотические и абиотические стрессы, могут влиять на экспрессию данных генов. Так, добавление 400 мкМ метилжасмоната приводило к индукции экспрессии *Pp3c2_13490* через 4 часа после обработки, а затем к её снижению через 8 часов. Помимо этого, нокаутные мутанты по генам *Pp3c6_12270* и *Pp3c2_13490* оказались более чувствительны к добавлению параквата, моделирующего окислительный стресс, и стрессовых фитогормонов метилжасмоната и абсцизовой кислоты.

Повышение концентрации активных форм кислорода является характерным маркером стресса, в том числе при взаимодействии с патогеном. Для детекции АФК протонему мха окрашивали флуоресцентным красителем 2',7'-дихлородигидрофлуоресцеин диацетатом (DCFH-DA). При обработке синтетическим пептидом наблюдалось увеличение концентрации внутриклеточных АФК.

Цистеин-богатые пептиды растений, к которым относятся EPFL, часто обладают антимикробной активностью. Анализ аминокислотных последовательностей в сервисе CAMP R3 показал потенциальную антимикробную активность пептидов *Pp3c2_13490* и *Pp3c6_12270*, однако этот факт нуждается в экспериментальном подтверждении.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что представители семейства EPFL *Pp3c2_13490* и *Pp3c6_12270* играют роль при адаптации *Physcomitrium patens* к стрессовым факторам разной природы.

Работа выполнена при поддержке Российского Научного Фонда (Проект № 23-74-10048).

Источники и литература

- 1) Caine R.S., Chater C.C., Kamisugi Y., Cuming A.C., Beerling D.J., Gray J.E., Fleming A.J. An ancestral stomatal patterning module revealed in the non-vascular land plant *Physcomitrella patens* // *Development*. 2016. V. 143. № 18. P. 3306–3314.

Протекторный эффект переменного низкочастотного электромагнитного поля на засухоустойчивость растения

Научный руководитель – Сеницына Юлия Витальевна

Мелузов М.Н.¹, Мшенская Н.С.², Ашутова Е.А.³

1 - Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия, *E-mail: mmmeluzov@gmail.com*; 2 - Нижегородский государственный университет им.

Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия, *E-mail: tasya.mshanka@yandex.ru*; 3 -

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия, *E-mail: ekaterina.ashutova@yandex.ru*

Проблема засухоустойчивости растений актуальна в наше время. Показано, что устойчивость к засухе у растений можно повысить с помощью электромагнитных полей (ЭМП) с частотами резонанса Шумана, причем наибольшей эффективностью обладает его вторая гармоника – 14,3 Гц [1]. В связи с этим, целью исследования было изучение влияния ЭМП с частотой 14,3 Гц и амплитудой 18 мкТл на засухоустойчивость растений.

Объектом исследования была пшеница мягкая яровая (*Triticum aestivum L.*) сорта Злата. Растения проращивали и культивировали под действием ЭМП (группа «ЭМП»), а также вне ЭМП (группа «Контроль»). С 14 по 22 дни культивирования у части растений обеих групп прекращали полив для моделирования засухи. В итоге формировали 4 экспериментальные группы: «Контроль», «ЭМП», «Засуха», «ЭМП + засуха». С 22 дня культивирования возобновляли полив. На 14, 22 и 30 дни культивирования оценивали засухоустойчивость растений по длине побега, площади листьев, количеству эпидермальных клеток (КЭК), количеству устьиц, устьичному индексу, степени открытости устьиц, площади устьиц, относительному содержанию воды (ОСВ) в листьях растений и почве, содержанию маркера стресса малондиальдегида (МДА) [2] и осмопротектора пролина [3] в листьях.

Действие засухи вызвало увеличение уровня МДА и пролина в листьях растений, а также уменьшение длины побегов и ОСВ в листьях и почве. ЭМП само по себе (группа «ЭМП») способствовало увеличению устьичного индекса (к 22 дню) и доли полуоткрытых устьиц (к 14 и 22 дням) у растений, снижению доли открытых устьиц, количества устьиц (к 14 и 30 дням) и КЭК (к 14 дню). ЭМП в сочетании с засухой (группа «ЭМП + засуха») способствовали увеличению КЭК, устьичного индекса, доли полуоткрытых устьиц и количества устьиц, повышению ОСВ в листьях и почве, дополнительному накоплению пролина в листьях, а также снижению уровня МДА в листьях относительно растений в засухе. После возобновления полива в группе «ЭМП + засуха» сохранился ряд отличий относительно растений в засухе - увеличение доли полуоткрытых и уменьшение доли открытых устьиц, снижение КЭК.

Таким образом, полученные результаты могут указывать на протекторный эффект ЭМП частотой 14,3 Гц и амплитудой 18 мкТл на растения пшеницы в условиях засухи. *Выражается благодарность доцентам Кафедры Биохимии и биотехнологии ННГУ им. Н.И. Лобачевского Сеницыной Ю.В. и Кальясовой Е.А. за научное руководство.*

Источники и литература

- 1) Mshenskaya N., Sinityna Y., Kalyasova E., Koshcheeva V., Zhirova A., Karpeeva I., Plin N. Influence of schumann range electromagnetic fields on components of plant redox metabolism in wheat and peas //Plants. – 2022. – Т. 11. – №. 15. – С. 1955.

- 2) Kumar G.N.M., Knowles N.R. Changes in lipid peroxidation and lipolytic and free-radical scavenging enzyme activities during aging and sprouting of potato (*Solanum tuberosum*) seed-tubers // *Plant Physiology*. 1993. Vol. 102. № 1. pp. 115–124.
- 3) Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D. Rapid determination of free proline for water-stress studies // *Plant Soil*. 1973. Vol. 39. pp. 205–207

Адаптационные стратегии растений Богдинско-Баскунчакского Заповедника

Научный руководитель – Голубкина Надежда Александровна

Плотникова Ульяна Дмитриевна

Студент (бакалавр)

Российский государственный геологоразведочный университет имени Серго

Орджоникидзе, Москва, Россия

E-mail: plotnikova.u.d@yandex.ru

В условиях высокой засоленности, засухи, повышенного уровня рН почвы и интенсивной солнечной радиации взаимодействие растений и почвы способствует формированию специфических адаптационных стратегий, включая избирательное накопление макро- и микроэлементов. С использованием метода ICP-MS проведен элементный анализ 12 видов растений из семейств Asteraceae, Fabaceae, Poaceae, Ephedraceae, Amarantaceae и Lamiaceae, собранных в Богдинско-Баскунчакском заповеднике (Астраханская область), а также установлен антиоксидантный статус растений с использованием биохимических методов анализа. Результаты выявили значительные межвидовые различия в накоплении 25 макро- и микроэлементов. У всех изученных видов обнаружены существенные корреляции между содержанием V, Al, Fe и Co. Представители семейства Poaceae продемонстрировали низкий уровень антиоксидантной защиты и высокое содержание Si, подтверждающее участие элемента в защите растений от неблагоприятных факторов окружающей среды и незначительную роль антиоксидантов в такой защите.

На основе данных о минеральном составе почвы рассчитан коэффициент биологического накопления (BAF) для Zn, Cu, Mn, Fe, Se, Cr и Pb. Установлено, что *Tanacetum millefolium*, *Jurinea ewersmannii*, *Helichrysum nogaicum*, *Phlomis pungens* и *Krascheninnikovia ceratoides* преимущественно накапливают Zn, Cu и Se (BAF > 1). Повышенные значения BAF для Zn и Cu зафиксированы у *Artemisia lerchiana* и *A. taurica*, а высокие значения BAF для Zn отмечены у *Ephedra distachya*, *Astragalus vulpinus* и *Eremopyrum orientale*. Уровень BAF для Cr не превышал 1 у всех видов, за исключением *Phlomis pungens*. Большинство видов активно накапливали Sr, что подтверждается прямой корреляцией между содержанием Sr в почве и растениях ($r = +0,958$; $p < 0,001$).

У представителей семейства Asteraceae зафиксировано самое высокое соотношение Ca/Sr, самое низкое соотношение K/Na и максимальный уровень содержания антиоксидантов. Соотношение Fe/Mn в растениях показало повышенные значения (13,5–15,3) у *Ephedra distachya* и *Phlomis pungens*, что свидетельствует о значительной нагрузке растений железом.

В результате проведенных исследований выявлено два принципиальных механизма адаптации растений к условиям полупустыни: 1) значительное накопление Si растениями семейства Poaceae и 2) высокий антиоксидантный статус (содержание полифенолов и общая антиоксидантная активность) растений семейства Asteraceae.

**Роль супероксиддисмутазы в формировании генеративных органов и
семенном размножении *Nicotiana tabacum***

Научный руководитель – Брейгина Мария Александровна

Подобедова Анна Андреевна

Студент (бакалавр)

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

E-mail: 17a2004@mail.ru

В ходе жизнедеятельности в растительных клетках и тканях образуются активные формы кислорода (АФК), которые оказывают влияние на физиологию и морфогенез, в том числе, на деление и рост клеток вегетативных тканей, а также прорастание пыльцевого зерна и рост пыльцевой трубки – процессы, определяющие в значительной мере репродуктивный успех семенных растений. АФК активно участвуют в качестве посредников в сигнальных процессах, в том числе, в генеративных тканях, в то же время, избыток АФК обладает повреждающим действием.

Для осуществления сигнальных процессов и защиты от окислительного стресса растения регулируют соотношение различных форм АФК и уровень каждой из них, главным образом с помощью ферментов редокс-метаболизма. Наиболее активно в нормальных физиологических условиях образуются супероксид анион радикал и пероксид водорода. Дисмутация супероксида с образованием перекиси осуществляется с помощью фермента супероксиддисмутаза (SOD), который, как ранее было показано на растениях дикого типа, активен в рыльцах *Nicotiana tabacum* и значим для прорастания пыльцы *in vivo* [2]. Дальнейшее изучение роли этого фермента мы проводили, анализируя трансгенные растения *Nicotiana tabacum* с дополнительным геном FeSOD (пластидная изоформа) в сравнении с растениями дикого типа сорта Самсун. Ранее данные трансгенные растения изучались с точки зрения устойчивости к стрессовым факторам и показали более высокую толерантность к холоду [1].

Мы обнаружили, что дополнительная SOD у *Nicotiana tabacum* оказывает влияние на формирование вегетативных и генеративных органов, а также семенное размножение. Листья и цветки у изучаемого трансгенного растения увеличены. Длина клеток в тычиночных нитях и столбике не отличается в сравниваемых генотипах, из чего можно заключить, что размер органов увеличен за счёт более активного деления клеток. Для трансгенных растений характерно повышение эффективности прорастания пыльцы *in vitro* в оптимальной среде, ускорение прорастания пыльцы на пестике, увеличенное количество семян в плодах по сравнению с диким типом. Измеряя суммарный уровень АФК на рыльце пестика в период фертильности методом ЭПР, мы обнаружили его достоверное снижение у трансгенов с дополнительной изоформой SOD.

Полученные данные позволяют заключить, что у *Nicotiana tabacum* с дополнительным геном FeSOD повышается репродуктивный успех, что может быть обусловлено снижением количества АФК в репродуктивных органах, в частности, на рыльце в период опыления.

Источники и литература

- 1) Baranova EN, Kononenko N V, Lapshin P V, et al (2024) Superoxide Dismutase Premodulates Oxidative Stress in Plastids for Protection of Tobacco Plants from Cold Damage Ultrastructure Damage. Int J Mol Sci 25:5544

- 2) Breygina M, Schekaleva O, Klimenko E, Luneva O (2022) The balance between different ROS on tobacco stigma during flowering and its role in pollen germination. *Plants* 11:993.

Создание вектора для конститутивной экспрессии флуоресцентного белка mBaoJin в растительных тканях

Научный руководитель – Ильина Елена Алексеевна

Попова Дарья Олеговна

Студент (бакалавр)

Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург,
Россия

E-mail: Popovadsh5903@gmail.com

В настоящее время простые и эффективные системы трансформации растений имеют широкое применение в селекции и генной инженерии. Отбор трансформантов *in vitro*, как правило, осуществляется с использованием антибиотиков или гербицидов [2][5]. Флуоресцентные белки, используемые для скрининга, обеспечивают независимое подтверждение трансформированного статуса тканей. В связи с этим создание векторов для трансформации растений, содержащих гены скрининговых или репортерных флуоресцентных белков является важной задачей современной агробиотехнологии [3].

Экспрессионный вектор для трансформации растений содержит T-ДНК с регуляторными элементами, необходимыми для транскрипции гена интереса, и скрининговой каскадой, содержащей кодирующую последовательность гена флуоресцентного белка. В биотехнологии растений применяют белки красного (mRuby3, DsRed1), и зеленого спектра (GFP, mNeonGreen,) [1][4]. Новый белок зеленого спектра mBaoJin показывает отличные результаты в качестве репортерного и скринингового маркера при трансформации животных клеток, но до настоящего момента не изучены его свойства в клетках растений [6].

Цель данной работы является создать вектор для конститутивной экспрессии зеленого флуоресцентного белка mBaoJin в растительных тканях для его изучения в качестве скринингового маркера.

Ген интереса *H2B-mBaoJin* вырезали из вектора pAAV-AscI-CAG-H2B-mBaoJin по сайтам *KpnI*, *NotI* с последующим лигированием в вектор pUC18-entry8. Полученный вектор pUC18-mBaoJin-H2B использовали в качестве вектора ввода в LR-клонажной реакции Gateway™ (Thermo Fisher Scientific) с вектором назначения pB7WG2R, так что фрагмент *H2B-mBaoJin* оказывался под контролем промотора *35S CaMV*. Таким образом, был получен вектор pB7WG2R-*H2B-mBaoJin*. В ходе дальнейшего исследования был сделан вывод, что флуоресцентный белок mBaoJin эффективен в растительных тканях и может быть использован в качестве скринингового маркера растений.

Источники и литература

- 1) Kremers G.-J. et al. Fluorescent proteins at a glance // J Cell Sci. 2011. Vol. 124, № 2. P. 157–160.
- 2) Lessard P.A. et al. Manipulating Gene Expression for the Metabolic Engineering of Plants // Metab Eng. 2002. Vol. 4, № 1. P. 67–79.
- 3) Miki B., McHugh S. Selectable marker genes in transgenic plants: applications, alternatives and biosafety // J Biotechnol. 2004. Vol. 107, № 3. P. 193–232.
- 4) Piatkevich K. et al. Red Fluorescent Proteins and Their Properties // Russian Chemical Reviews. 2010. Vol. 79. P. 243.

- 5) Súnico V. et al. Overview on Current Selectable Marker Systems and Novel Marker Free Approaches in Fruit Tree Genetic Engineering // Int J Mol Sci. 2024. Vol. 25, № 22.
- 6) Zhang H. et al. Bright and stable monomeric green fluorescent protein derived from StayGold // Nat Methods. 2024. Vol. 21, № 4. P. 657–665.

Исследование экспрессии флуоресцентных белков Electra 1 и Electra 2 в растительных тканях

Научный руководитель – Ильина Полина Алексеевна

Синяпкина Полина Алексеевна

Студент (бакалавр)

Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: psinyapkina@mail.ru

В течение последних нескольких десятилетий растет потребность в одновременной визуализации в интактных биологических системах с высоким содержанием множества субклеточных и клеточных структур. Спектральное разнообразие флуоресцентных белков обеспечивает простой подход к мультиплексной визуализации различных субклеточных и клеточных структур в культивируемых клетках и различных модельных организмах [2].

Флуоресцентные белки применяются в геномной инженерии растений в качестве репортерных и скрининговых маркеров. Наибольшую популярность имеют белки зелёного и красного спектра [1]. Белки синего спектра, например, Electra, также являются перспективным репортерным и скрининговым маркером, но их экспрессия в растительных тканях в настоящее время недостаточно изучена.

Целью данной работы было конструирование векторов для конститутивной экспрессии синих флуоресцентных белков Electra1 и Electra 2 с ядерной локализацией в растительных тканях для последующей оценки их пригодности в качестве скрининговых маркеров. Объектом исследования выступали лабораторные штаммы *Escherichia coli* XL 1.Blue.

Для этого необходимо было получить экспрессионную кассету *H2B-Electra1* и *H2B-Electra2* (содержатся в коммерческой плазмиде AddGene179479), которые клонировали в вектор ввода системы Gateway™ (Thermo Fisher Scientific, США) pUC18-entry8. Полученные вектора pUC18-*H2B-Electra1* и pUC18-*H2B-Electra2* были использованы в LR-клонажной реакции, позволяющей осуществить направленный перенос фрагмента в вектор назначения pB7WG2D, содержащий конститутивный промотор 35S вируса мозаики цветной капусты для экспрессии целевого гена. Далее полученные вектора использовали для трансформации растений: у пятидневных проростков семян огурца *Cucumis sativus* L. удаляли главный корень и на срез наносили агробактериальную массу штамма *Rhizobium rhizogenes* R1000, содержащую один из векторов pB7WG2D-*H2B-Electra1* или pB7WG2D-*H2B-Electra2*. По истечении двух недель с момента посадки растений был проведен отбор трансгенных корней методом флуоресцентной и конфокальной микроскопии. В результате исследования флуоресцентные белки Electra1 и Electra 2 были обнаружены в тканях исследуемого образца.

Источники и литература

- 1) Ильина Е. Л., Кирюшкин А. С., Демченко К. Н. Особенности использования флуоресцентных репортерных белков для изучения развития корневых систем на примере тыквенных (Cucurbitaceae) // Сельхозбиология, 2020, №5.
- 2) Papadaki, S., Wang, X., Wang, Y. et al. Dual-expression system for blue fluorescent protein optimization // Sci Rep 12, 2022, 10190.

Повышение эффективности размножения картофеля *in vitro* с помощью гуминового препарата

Научный руководитель – Петухова Людмила Владимировна

Уловков И.А.¹, Подолян Е.А.²

1 - Тверской государственный университет, Тверь, Россия, *E-mail*: ulovkov2003@gmail.com; 2 - Почвенный институт имени В.В. Докучаева, Москва, Россия, *E-mail*: podolian.ea@yandex.ru

Микроклональное размножение относится к инновационным и эффективным биотехнологиям в области получения большого числа растений, свободных от вирусных инфекций. В связи с этим стоит проблема получения как можно большего числа эксплантов с одного растения. Кроме того, в сложившихся экономических условиях требуется в кратчайшие сроки увеличение количества посадочного материала сортов отечественной селекции.

Цель исследования – изучить значение гуминового препарата БоГум, показавшего ранее свою эффективность в полевых экспериментах [1], при микроклональном размножении картофеля сорта "Северное сияние" (среднеспелый, отечественной селекции) *in vitro*. Исследуемый препарат получали путем щелочной экстракции на ферментационно-экстракционной линии, где исходным сырьем является торфонавозная смесь. Содержание гуминовых кислот в БоГум – 10–15 г/л [1]. Препарат БоГум был включён в состав стандартной питательной среды Мурасиге-Скуга (МС) в дозе 1 мл/л. Контролем служили экспланты, выращенные на стандартной среде МС. Каждый вариант насчитывал 20 растений в трехкратной повторности. Культивирование микрорастений осуществляли в течение 70 суток в климатостатах КС-200 (Смоленское СКТБ СПУ) при температуре 21°C, относительной влажности воздуха 70–80 %, освещении 16 ч в сутки. Контролируемые параметры растений картофеля – число междоузлий, длина корней и побегов. Изучение морфо- и ризогенеза имеет большое значение, так как эти параметры сказываются на дальнейшей адаптивной способности *ex vitro* и получении урожая миниклубней, а также получении качественного материала для последующего тиражирования.

Полученные данные показали, что включение гуминового препарата БоГум в состав питательной среды для микроклонального размножения картофеля в дозе 1 мл/л оказывало стимулирующий эффект на развитие корней и побегов. Отмечено статистически значимое увеличение длины побега на 52,14 %, длины корней – на 29,31 % относительно контроля (58,5 и 73,0 мм соответственно). В среднем разница между числом междоузлий у растений, полученных на оптимизированных питательных средах, и контрольным вариантом опыта составила 3 междоузлия.

Доказанный положительный эффект позволяет рекомендовать применение БоГум в размножении картофеля сорта "Северное сияние" в условиях *in vitro* и в дальнейшем изучать его различные концентрации в составе питательных сред, а также при размножении других сортов картофеля.

Источники и литература

- 1) 1. Фомичева Н. В., Рабинович Г. Ю., Смирнова Ю. Д. Влияние технологических приёмов применения гуминового препарата на продуктивность яровой пшеницы // Достижения науки и техники АПК. 2020. Т. 34. № 9. С. 53–58. doi: 10.24411/0235-2451-2020-10910.

Получение наночастиц серебра стабилизированных катионными полимерами и исследование их влияния на ростовые процессы растений пшеницы и сои

Научный руководитель – Крутяков Юрий Андреевич

Хина Александр Григорьевич

Сотрудник

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Химический факультет, Кафедра химии нефти и органического катализа, Москва, Россия

E-mail: alex_khina@inbox.ru

Обладая развитой площадью поверхности (до 100 м²/г), наночастицы серебра (НЧАг) проявляют ряд особых физико-химических и биологических свойств, отличных от свойств, присущих макроскопической форме данного металла [1]. Одной из сравнительно новых областей исследования НЧАг является изучение их действия на высшие растения. В последние несколько десятилетий было показано, что НЧАг оказывают влияние на многие внутриклеточные процессы, происходящие в клетках растений, что в свою очередь приводит к изменению их ростовых параметров. Однако, результаты опубликованных к настоящему моменту исследований носят противоречивый характер, а основные факторы, определяющие направленность и интенсивность воздействия НЧАг на высшие растения, остаются не определенными [2]. Целью работы стало изучение влияния НЧАг, стабилизированных двумя различными катионными полимерами, на ростовые параметры растений пшеницы и сои в зависимости от вносимой дозы НЧАг, а также от фазы развития растений, при которой на них осуществлялось воздействие.

Водные дисперсии НЧАг получали методом химического восстановления нитрата серебра борогидридом натрия. В качестве стабилизирующих агентов использовали полигексаметиленбигуанид гидрохлорид и поливинилпирролидон. Молекулярно-массовое распределение полимеров определяли методом ГПХ, а полученные дисперсии НЧАг были охарактеризованы методами УФ-спектроскопии, ПЭМ и ДРС. Изучение действия НЧАг на ростовые процессы растений пшеницы и сои проводили в лабораторных условиях при проращивании замоченных в дисперсиях НЧАг семян, а также в полевых условиях при опрыскивании вегетирующих растений дисперсиями НЧАг. Концентрацию НЧАг в исследуемых дисперсиях варьировали от 1 до 100 мг/л. В лабораторных условиях, в качестве ростовых параметров, измеряли длину корня, длину стебля и общую массу ростка. В полевых условиях, измеряли массу корней, высоту и количество стеблей, а также интегральные показатели урожайности.

Было обнаружено, что замачивание семян пшеницы в дисперсиях НЧАг приводит к снижению всхожести семян на 20-80%. Однако, ростовые показатели взошедших семян, подвергшихся воздействию НЧАг, превышали показатели контрольной группы на 10-50%. При этом, выраженность наблюдаемых эффектов возрастала при увеличении концентрации НЧАг. В случае воздействия на семена сои, достоверных изменений процента всхожести семян и ростовых параметров проросших растений обнаружено не было. В полевых условиях, воздействие НЧАг на растения сои и пшеницы приводило к увеличению среднего числа и высоты стеблей, а также массы корней. Кроме того, воздействие НЧАг приводило к увеличению урожайности растений пшеницы и сои, которое, в зависимости от концентрации НЧАг и вида растения составило от 2.1 до 22.3%. На основании проведенного анализа активности ферментов про-/антиоксидантного баланса в тканях растений, было предложено объяснение наблюдаемых эффектов.

Источники и литература

- 1) S. Dawadi et al. Current Research on Silver Nanoparticles: Synthesis, Characterization, and Applications // Journal of Nanomaterials, 2021. Vol. 2021. Article ID 6687290.
- 2) A.G. Khina et al. Effect of Silver Nanoparticles on the Physiology of Higher Plants // Rus. J. Plant. Phys, 2024. Vol. 71. Article № 169.

Суперпродуцент жирных кислот с очень длинной цепью, или необычный феномен липидного метаболизма растительных культур клеток на примере *Polyscias filicifolia* L.H.Bailey

Научный руководитель – Сидоров Роман Александрович

Янковский Давид Александрович

Студент (магистр)

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

E-mail: davidyankovskii@gmail.com

Жирные кислоты с очень длинной цепью, или ЖКОДЦ – это жирные кислоты с длинной цепи 20-38 атомов углерода. В растениях они участвуют в синтезе мембранных липидов, кутикулярных восков, суберина и нейтральных ацилглицеридов [1]. В клетках листьев *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. ЖКОДЦ присутствуют в минорных количествах (0,1-3% от суммы ЖК).

Липиды выделяли из суспензионных культур клеток, выращиваемых в биореакторе и колбах, из культуры адвентивных корней и из листьев растений *P. filicifolia* L.H.Bailey по методу Блая-Дайера [2]. Нейтральные и полярные липиды разделяли фракционированием в холодном ацетоне [3]. Свободные ЖК из суммарных липидов (СЛ) и их отдельных классов получали омылением, далее превращали их в метиловые эфиры, которые анализировали с помощью ГХ-МС. Полярные липиды разделяли методом двумерной ТСХ и анализировали фракции с помощью тандемной МС [4].

Доля бегеновой кислоты (С22:0) в СЛ листьев не превышала 0,3% от суммы ЖК, в СЛ культуры адвентивных корней - 8,2% от суммы ЖК. При этом в СЛ суспензионных культур клеток, выращиваемых в колбах и 20-л ферментере, содержание С22:0 достигало 24,7 и 33,6%, соответственно.

Три- и *sn*-1,2-диацилглицерины содержали 2,1 и 14,1% С22:0, соответственно. С22:0 главным образом присутствовала в моногалактозилглицеридах (78,7%). Также она находилась в зоне ТСХ, содержавшей смесь фосфатидилхолина (ФХ) и фосфатидилсерина и, по-видимому, ацилировала ФХ (20,1%), так как методом МС-МС с ионизацией электро-распылением был идентифицирован молекулярный вид 20:0\18:2-ФХ. Остальные классы липидов содержали не более 0,5% С22:0.

Таким образом, нам удалось убедительно показать, что аномально высокие уровни ЖКОДЦ в суммарных липидах суспензионных культур клеток *P. filicifolia* не являются артефактами культивирования культур или выделения липидов, и что бегеновая кислота участвует в глицеролипидном обмене, преимущественно ацилируя МГДГ, ФХ и ДАГ. Наличие в ДАГ большего количества С22:0 в сравнении с ТАГ объясняется их участием преимущественно в синтезе галактолипидов [5]. Наличие в МГДГ такого большого количества С22:0 позволяет предположить использование клетками пластид в качестве органелл, запасующих ЖКОДЦ.

Результаты исследований получены в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ (тема № 122042700043-9).

Источники и литература

- 1) Millar A.A., Kunst L. Very-long-chain fatty acid biosynthesis is controlled through the expression and specificity of the condensing enzyme // Plant J. 1997. Vol. 12, № 1. P. 121–131

- 2) Sündermann A., Eggers L.F., Schwudke D. Liquid Extraction: Bligh and Dyer // Encyclopedia of Lipidomics / ed. Wenk M.R. Dordrecht: Springer Netherlands, 2016. P. 1–4.
- 3) Genot C. Purification of Lipids by Cold-Acetone Precipitation // Multidimensional Characterization of Dietary Lipids / ed. Lopez C., Genot C., Riaublanc A. New York, NY: Springer US, 2024. P. 31–36.
- 4) Moe M.K. ESI Low-Energy Tandem MS Characterisation of Lipids Modified by a Novel Derivatisation Method. Tromsø, Norway: University of Tromsø.
- 5) He M. et al. Plant Unsaturated Fatty Acids: Biosynthesis and Regulation // Front. Plant Sci. 2020. Vol. 11. P. 390.